

Evolução da composição físico-química da aguardente vínica *Lourinhã* nos primeiros seis meses de envelhecimento em sistema tradicional e em sistema alternativo

Sara Isabel de Almeida Cruz

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Viticultura e Enologia

Orientadores: Doutora Sara Maria de Almeida Lopes Canas
Doutor Jorge Manuel Rodrigues Ricardo da Silva

Júri:

Presidente: Doutor Augusto Manuel Nogueira Gomes Correia, Professor associado com agregação, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutora Sofia Cristina Gomes Catarino, Professora auxiliar convidada, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutora Sara Maria Almeida Lopes Canas, Investigadora auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária – Dois Portos

O presente trabalho foi realizado no Instituto Nacional de Investigação
agrária e Veterinária (INIAV) – Dois Portos, na secção de Aguardentes,
Derivados e Subprodutos.

Agradecimentos

Resta-me agradecer. E tenho tanto para agradecer que não sei se tenho tempo ou folhas disponíveis para o efeito. Em jeito de agradecimento, dedico, aos meus pais este documento. A eles devo não só a vida e a motivação como também a vontade, ou às vezes à falta dela, para arrumar este percurso académico que tantas aventuras tem tido.

Agradeço ao Professor Doutor Jorge Ricardo da Silva pela sua mestria em orientar os seres amestrados que só querem acabar sem o a. Grande Bem Haja por ser meu orientador.

Como a dedicatória já está direccionada, um agradecimento de proporção desmesurada para a minha orientadora, Doutora Sara Canas. Pelos inúmeros ensinamentos que me deu e que trago no bolso só que às vezes esqueço-me que estão lá. Pela paciência. Pelas brincadeiras. Pelas confidências. Pela paciência. Pela amizade... acho que o posso dizer. Bom, seja como for a sua paciência foi preponderante perante as minhas indecisões e os meus falhanços... Não é possível traduzir este agradecimento em papel. Nem que fosse escrito Obrigada em todas as línguas. Agradeço imenso. Muito Obrigada. Um Grande Bem Haja. Em todas as línguas.

Aos meus amigos. Sejam eles família, de nascença ou adquiridos por ventura desta tese. Àqueles que resistem ao tempo e à lonjura e às zangas. Às zangas que surgem de stresses acumulados por causa de documentos como este. Eu sei quem eles são. Agradecerei pessoalmente.

Ao INIAV – Dois Portos, mas só às pessoas que nele trabalham e que nele estagiaram, trabalham e trabalharam. Uma Patricia, uma Marta, uma Andreia, um Rui, um Rosa e tantas outras moças a Cintia, a Francisca... Aos investigadores que transportam consigo tanta sabedoria e que a partilharam um bocadinho comigo, em particular ao Jorge, à Eng. Sofia, ao Eng. Vasco, ao Eng. Sun e à Eng. Ilda. Eng. Ilda: Bem Haja pela ajuda! Sem si não teria sido o mesmo. Grandes provas! E claro à Amélia, à Deolinda, à Otília. À Irene e à Mena (que sabe que lhe estou agradecida) e à São e à ...Fátima! Bom e como não poderia faltar à Dona Edviges que nunca me deixou passar qualquer tipo de fome fosse ela comida, carinho, boa disposição e má também. Pelos bolos de cenoura e tudo o resto que eu cá sei. Agradeço à Doutora Margarida Baleiras Couto, como Presidente do INIAV – Dois Portos outro grande Bem Haja!

Se as coisas tivessem sido diferentes provavelmente não estaria a fazer este agradecimento. Os que vou fazer a seguir:

Portanto Obrigada José e Paulo por compreenderem a importância de entregar este documento e me permitiram tratar deste assunto em tempo útil. Bem Haja!

E claro Bem Haja Miguel, por seres companheiro, amigo e mais tarde amor, em todas as fases desta etapa. Não te assusto facilmente, já vi que não... E é também isso que faz de ti o Amor da minha vida!

Não não, isto não está bem. Tenho que agradecer tudo outra vez. Devia ser mais detalhada, mais intensa no agradecimento... é engraçado porque sempre considerei impróprio escrever os agradecimentos antes do fim. Parece graxa. Mas agora já acabou e ainda bem que já tinha começado a agradecer. E ainda tenho tanto que agradecer... é melhor continuar por aqui. Não se pode parar de agradecer.

BEM HAJA!

RESUMO

Durante os primeiros seis meses de envelhecimento de uma aguardente vínica da Lourinhã envelhecida em diferentes sistemas: vasilhas de madeira de 650 dm³ (sistema tradicional) e depósitos de aço inoxidável de 3000 dm³ com aduelas de madeira (sistema alternativo), procedeu-se ao estudo das suas características físico-químicas incluindo as gerais, o extrato seco, o oxigénio dissolvido, o índice de polifenóis totais, as características cromáticas, e os compostos de massa molecular baixa determinados por HPLC, e características organolépticas. Em ambos os sistemas utilizaram-se duas madeiras em simultâneo: castanheiro português (*Castanea sativa* Mill.) e carvalho francês Limousin (*Quercus robur* L.) com queima média mais, dispostas alternadamente. A quantidade de aduelas presente em cada depósito foi calculada de modo a reproduzir a relação superfície/volume de uma vasilha de 650 dm³. Os resultados obtidos revelam que o tipo de sistema de envelhecimento exerce um efeito muito significativo na composição química e na cor das aguardentes envelhecidas. O sistema alternativo promove maior evolução da cor e menor consumo de oxigénio, enquanto o sistema tradicional origina maior extrato seco, bem como maior teor de polifenóis totais e de compostos de massa molecular baixa. Estes resultados, aprofundados através de um ensaio baseado no método de determinação do extrato seco, indicam que as modificações observadas na aguardente durante o processo de envelhecimento se encontram estreitamente relacionadas com a forma em que a madeira é usada, sugerindo que os constituintes e os fenómenos que ocorrem em cada sistema de envelhecimento são diferentes. Relativamente ao tempo de envelhecimento, existe um efeito altamente significativo nas características das aguardentes envelhecidas, mesmo num período curto de tempo, verificando-se maior extração dos compostos da madeira até aos 90 dias. Na prova organoléptica revela-se uma tendência para melhor classificar as aguardentes envelhecidas em depósito com adição de aduelas. Os resultados apontam o sistema alternativo como um método interessante para produção de aguardente vínica.

Palavras-chave: aguardente vínica; envelhecimento; características físico-químicas; compostos de massa molecular baixa, sistemas alternativos.

ABSTRACT

A study of Lourinhã wine brandy was performed during the first six months of ageing in different systems: 650 dm³ wooden barrels (traditional system) and stainless steel tanks of 3000 dm³ with wooden staves (alternative system), analyzing their physicochemical characteristics which includes the general, dry extract, dissolved oxygen, total polyphenol index, chromatic characteristics, and low molecular weight compounds determined by HPLC, and their organoleptic characteristics. In both systems were used two woods simultaneously: Portuguese chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and French Limousin oak (*Quercus robur* L.) with medium plus toasting level and arranged alternately. The quantity of staves was calculated in order to reproduce the surface/volume ratio of a 650 dm³ wooden barrel. The results show that the type of the ageing system has a very significant effect on the chemical composition and color of the aged brandies. The alternative system promotes greater color development and lower oxygen consumption, whereas the traditional system yields higher dry extract as well as higher total polyphenol content and low molecular weight compounds. These results, which have been explored by an essay based on the determination of the dry extract method, indicate that the changes observed in the wine brandy during the aging process is closely related to the manner in which the wood is used, suggesting that the constituents and the phenomena occurring in each ageing system are different. For the aging time, there is a highly significant effect on the characteristics of aged brandy, even though the observations are made in a short period of time, with higher extraction of the wood compounds up to 90 days. In the brandy organoleptic evaluation is shown a trend to better classify the brandies aged in stainless steel tanks with staves. The results show the alternative system as a viable method for ageing wine brandy.

Key-words: wine brandy; ageing systems; physicochemical characteristics; low molecular weight compounds, alternative systems.

Índice

Agradecimentos	I
RESUMO	II
ABSTRACT	III
Índice	IV
Lista de Quadros	VI
Lista de Figuras	VII
Lista de Abreviaturas	IX
INTRODUÇÃO	1
I REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
I.1. Aguardente vínica	2
I.1.1. Composição química e características sensoriais da aguardente vínica	2
I.1.2. Condicionantes da qualidade da aguardente vínica	2
I.1.3. A aguardente vínica produzida em Portugal	3
I.2. Envelhecimento	4
I.2.1. A Madeira	4
I.2.1.1. Composição química da madeira	4
I.2.1.2. Aptidão da madeira para tanoaria	7
I.2.1.2.1. Influência da tecnologia de tanoaria na composição da madeira	9
I.2.2. O processo de envelhecimento	10
I.2.2.1 Sistemas de envelhecimento	13
I.2.2.1.1. Sistema tradicional	14
I.2.2.1.2. Sistema alternativo	15
I.2.3. O tempo de envelhecimento	17
II MATERIAIS E MÉTODOS	18
II.1. Delineamento experimental	18
II.2. Materiais	18
II.2.1. Aguardente	18
II.2.2. Madeiras	19
II.3. Métodos analíticos	19
II.3.1. Características gerais	19
II.3.2. Índice de polifenóis totais	19
II.3.3. Características cromáticas	20
II.3.4. Compostos de massa molecular baixa	20
II.3.5. Extrato Seco	22
II.3.5.1 Ensaio baseado no método do “Extrato seco”	22

II.3.6. Teor de oxigénio dissolvido	23
II.4. Prova organoléptica	23
II.5. Métodos Estatísticos	24
III RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
III.1. Efeito do sistema de envelhecimento	26
III.1.1. Características gerais das aguardentes vínicas	26
III.1.2. Características cromáticas e outros parâmetros analíticos das aguardentes vínicas	27
III.1.3. Compostos de massa molecular baixa das aguardentes vínicas	31
III.1.4. Ensaio baseado no método do “extrato seco”	35
III.1.5. Características organolépticas das aguardentes vínicas	38
III.1.5.1. Avaliação e caracterização do grupo de prova	38
III.1.5.2. Efeito do sistema de envelhecimento nas características organolépticas das aguardentes vínicas	39
III.2. Efeito do tempo de envelhecimento	42
III.2.1. Cinéticas das características gerais das aguardentes vínicas ao longo dos seis meses de envelhecimento	42
III.2.2. Cinéticas das características cromáticas e de outros parâmetros analíticos das aguardentes vínicas ao longo dos seis meses de envelhecimento	43
III.2.3. Cinéticas dos compostos de massa molecular baixa das aguardentes vínicas ao longo de seis meses de envelhecimento	46
III.3. Análise multivariada	48
IV CONCLUSÕES	52
V BIBLIOGRAFIA	55
VI Divulgação do conhecimento do presente trabalho	64
VII Anexos	65

Lista de Quadros

Quadro II.1. Padrões utilizados no método cromatográfico

Quadro II.2. Programa de eluição do método cromatográfico

Quadro III.1. Características gerais das aguardentes vínicas envelhecidas ao longo de seis meses de envelhecimento

Quadro III.2. Parâmetros analíticos respeitantes à composição química e às características cromáticas das aguardentes vínicas ao longo de seis meses de envelhecimento

Quadro III.3. Teores de compostos de massa molecular baixa das aguardentes vínicas ao longo de seis meses de envelhecimento

Quadro III.4. Valores médios dos parâmetros analíticos das amostras antes e após aplicação do método do “extrato seco”

Quadro III.5. Correlações entre as características cromáticas e cor observada na prova organoléptica das aguardentes vínicas com seis meses de envelhecimento

Lista de figuras

Figura 1.1. Mapa de regiões de produção de aguardente vínica com denominação de origem em Portugal

Figura 1.2. Estruturas químicas dos ácidos fenólicos

Figura 1.3. Estruturas químicas dos aldeídos fenólicos

Figura 1.4. Estruturas químicas dos aldeídos furânicos

Figura 1.5. Estruturas químicas do ácido hexahidroxidifenílico e da sua dilactona, o ácido elágico

Figura 1.6. Esquema da degradação da lenhina

Figura 2.1. Esquema do ensaio

Figura 2.2. Esquema do método de determinação do extrato seco

Figura 3.1. Cromatogramas de aguardente vínica envelhecida em depósitos e em vasilhas, com deteção a 280 nm e 320 nm, aos seis meses de envelhecimento

Figura 3.2. Teores totais de aldeídos furânicos, ácidos fenólicos e aldeídos fenólicos das aguardentes vínicas envelhecidas nos dois sistemas ao longo de seis meses

Figura 3.3. Perfil organoléptico médio das aguardentes vínicas aos seis meses de envelhecimento nos diferentes sistemas

Figura 3.4. Apreciação do aroma, sabor e global das aguardentes vínicas com seis meses de envelhecimento nos dois sistemas

Figura 3.5. Evolução dos valores médios das características gerais das aguardentes vínicas ao longo do tempo de envelhecimento

Figura 3.6. Evolução dos valores médios de extrato seco, índice de polifenóis totais e oxigénio dissolvido ao longo dos seis meses de envelhecimento

Figura 3.7. Evolução das características cromáticas médias das aguardentes nos primeiros seis meses de envelhecimento

Figura 3.8. Projeção dos valores médios das aguardentes vínicas nos primeiros seis meses de envelhecimento, no espaço definido pelas coordenadas rectangulares a^* e b^*

Figura 3.9. Evolução da concentração média dos compostos de massa molecular baixa nos primeiros seis meses de envelhecimento das aguardentes vínicas.

Figura 3.10.- Fenograma UPGMA das aguardentes vínicas envelhecidas durante seis meses nos dois sistemas em função das características gerais, características cromáticas e compostos de massa molecular

Figura 3.11. Projeção das aguardentes produzidas nos sistemas de envelhecimento ao longo do tempo, e das características físico-químicas analisadas no espaço definido pela 1ª e 2ª componentes principais

Lista de abreviaturas

5mfurf - 5-Metilfurfural

a* - Coordenada rectangular a*

A.P. – Álcool puro

A 470 – Absorvência a 470 nm

AF - Acidez fixa

Ap aroma – Apreciação de aroma

Ap geral – Apreciação geral

Ap sabor – Apreciação de sabor

AT - Acidez total

AV - Acidez volátil

b* - Coordenada rectangular b*

C* - Saturação

cnald – Coniferaldeído

C - Controlo

d - Dias

D – Aguardente envelhecida em depósito

D.O. - Denominação de origem

ES- Extrato seco

elag - Ácido elágico

furf - Furfural

gal - Ácido gálico

HMF – 5-Hidroximetil furfural

HPLC – Cromatografia líquida de alta resolução

Ipt - Índice de polifenóis totais

L* - Luminosidade

LSD – Diferença mínima significativa

min - Minutos

ns – Diferença não significativa

nd – Não detetado

OD - Oxigénio dissolvido

P - Probabilidade

PCA – Análise em componentes principais

QF – Queima forte

QL – Queima ligeira

QM – Queima média

Reg. - Regulamento

sg - Ácido siríngico

s – Desvio padrão

sgald - Siringaldeído

snald - Sinapaldeído

UE - União Europeia

V – Aguardente envelhecida em vasilha

van - Ácido vanílico

vanil – Vanilina

VS – Very Special

VSOP – Very Special Old Pale

x - Média

XO – Extra Old

INTRODUÇÃO

O mundo atual requer celeridade e ao mesmo tempo excelência. Fazer mais e melhor, rapidamente e com o menor custo possível. Este aspeto é extrapolável para qualquer área de interesse e interliga a investigação técnico-científica à sua aplicação industrial. A tecnologia enológica e, mais concretamente, o processo de envelhecimento, enquadra-se pois neste plano.

Nesta perspectiva, nada nos impede, ou deverá impedir-nos, de agir no sentido de alterar a técnica uma vez garantida a qualidade. À medida que o conhecimento avança e são comprovadas melhores práticas ao nível da tecnologia alimentar, cumpre-nos proceder para que a legislação englobe a excelência e a exija.

A qualidade de uma aguardente vínica envelhecida depende de inúmeros fatores, que se resumem nas características do destilado e nas transformações que se processam durante o envelhecimento - sem o qual a aguardente vínica não pode ser comercializada - de acordo com o Regulamento CE nº 110/2008, que define o tempo mínimo de envelhecimento de seis meses para a aguardente vínica.

A necessidade de otimizar e reduzir os custos inerentes ao envelhecimento da aguardente vínica no sistema tradicional em vasilha de madeira, decorrentes da imobilização de capital em aguardente e em vasilhas, bem como a mão-de-obra, incitam a procura de sistemas alternativos de envelhecimento.

Os vários estudos realizados no INIAV - Dois Portos no domínio da aguardente vínica, das madeiras utilizadas para o seu envelhecimento e da interação entre ambas, em que múltiplas variáveis foram investigadas, conduziram à concepção das condições deste trabalho, que pretende dar o seu contributo para o conhecimento e desenvolvimento da produção sustentável da aguardente vínica.

Com o presente trabalho, integrado no projeto de investigação *“Envelhecimento de aguardente vínica à escala industrial em sistema alternativo, em comparação com o envelhecimento tradicional”*, pretende-se pois aprofundar o conhecimento técnico-científico sobre os dois métodos de envelhecimento, de forma a obter resultados fiáveis sobre as potencialidades dos sistemas alternativos de envelhecimento. Para o efeito, recorre-se ao estudo dos efeitos da adição de aduelas de madeiras de carvalho francês Limousin e de castanheiro, em simultâneo, a uma aguardente vínica Lourinhã em conservação em depósitos de aço inoxidável de 3000 dm³ (sistema alternativo), em comparação com a mesma aguardente em envelhecimento em vasilhas de madeira de 650 dm³ (sistema tradicional), constituídas por igual proporção de aduelas de carvalho Limousin e de castanheiro, ao longo dos seis primeiros meses de envelhecimento, sobre as características físico-químicas e organolépticas da mesma.

I. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

I.1. A aguardente vínica

A destilação é uma técnica cuja antiguidade exata se desconhece, no entanto, registos indicam que remonta aos tempos idos, antes de Cristo, iniciada pelos chineses (3000 a.C.) e continuada pelos egípcios (2000 a.C.), pelos gregos e pelos romanos. Até hoje, a “arte” de destilar permanece, sendo utilizada para fins medicinais, obtenção de perfumes e aguardentes (Léauté, 1990; Plouvier, 2008).

No século XV, em França, Arnaud de Villeneuve, destilou o primeiro vinho, a cujo o produto resultante chamou “ eau-de-vie ” - água da vida.

I.1.1. Composição química e características organolépticas da aguardente vínica

O produto resultante da destilação do vinho constitui a aguardente vínica, designada vulgarmente por “aguardente branca”. De aspeto límpido e transparente, é caracterizada pelo seu elevado título alcoométrico volúmico, pela riqueza em compostos voláteis, tais como ésteres, ácidos alifáticos, álcoois superiores, acetais e furfural, e pela ausência de compostos fenólicos com exceção dos compostos voláteis (Leauté, 1990; Artajona *et al.*, 1991; Leclaire, 1999).

I.1.2. Condicionantes da qualidade da aguardente vínica

A obtenção de um destilado vínico de qualidade está estritamente dependente do vinho que lhe dá origem, cujas características são, por sua vez, condicionadas por: fatores vitícolas – os tratamentos fitossanitários (Estreguil *et al.*, 2008), o terroir (Cantagrel, 2008; Garreau, 2008), a vindima (Belchior, 1987); fatores enológicos - a vinificação (Joseph e Marché, 1972; Belchior, 1987; Leauté, 1990; Cantagrel, 2008; Garreau, 2008), a conservação e a destilação (Cantagrel, 2008; Garreau, 2008).

O vinho destinado à produção de uma aguardente de qualidade deverá apresentar baixo título alcoométrico volúmico, elevada acidez e aroma fino sem intensidade, de forma a evitar a obtenção de aguardentes excessivamente aromáticas (Belchior, 1987). É de salientar, portanto, a importância de utilizar uvas sãs e de castas que na altura da vindima apresentem uma acidez fixa elevada (superior a 4 g de ácido tartárico/dm³) e baixo teor de açúcares, bem como a realização de uma destilação precoce (Lafon, 1964; Leauté, 1990), para garantir a estabilidade físico-química e microbiológica do vinho, de preferência sem recurso à adição de dióxido de enxofre. Com efeito, este composto confere aromas indesejáveis ao destilado e que irão manifestar-se na aguardente envelhecida dele resultante (Belchior, 1987).

A destilação do vinho foi inicialmente um processo empírico, uma arte aperfeiçoada ao

longo do tempo que, conjuntamente com as características do vinho, irão condicionar as reações – esterificações, acetalizações e hidrólises – que darão origem ao destilado (Belchior, 1987). Pode ser descontínua, realizada em alambique, ou contínua, efetuada em coluna de destilação. Cada tipo de destilação origina aguardente vínica com características distintas.

I.1.3. A aguardente vínica produzida em Portugal

A aguardente vínica produzida em Portugal com direito a Denominação de Origem (D.O.) provém das regiões da Bairrada, Douro, Tejo, Vinhos Verdes e Lourinhã - Figura 1.1.

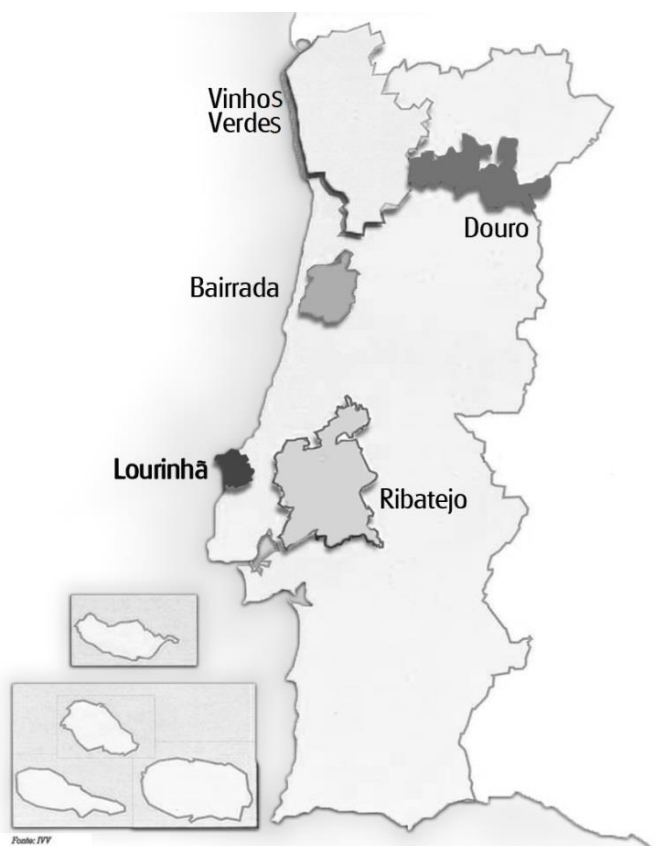


Figura 1.1. Mapa de regiões de produção de aguardente vínica com Denominação de Origem em Portugal

Importa destacar que a Lourinhã constitui uma denominação exclusiva de produção de aguardente vínica, tal como as regiões de Cognac e Armagnac, em França. Foi reconhecida como D.O. em 1992 (DL nº 34/92, de 7 de Março) e com os seus estatutos a reportarem a 1994 (DL nº 323/94, de 29 de Dezembro), em grande parte fruto da atividade da investigação desenvolvida na ex-Estação Vitivinícola Nacional (actual INIAV-Dois Portos), em estreita colaboração com os agentes da região, desde a década de setenta do século passado.

A região da Lourinhã detém uma importante tradição na produção de aguardente vínica, sendo que, no início do século XIX conheciam-se uma dúzia de destilarias na região. No século XX surgiu um conjunto de grupos comerciais intermediários e facilitadores das trocas comerciais entre a região do Douro, para a produção dos seus vinhos licorosos, e a região da Lourinhã.

I.2. Envelhecimento

O envelhecimento da aguardente vínica é uma etapa elementar e imprescindível para a obtenção de um produto de qualidade (Belchior 1987). Neste processo de envelhecimento estão implicados diversos aspetos, designadamente a madeira, os sistemas de envelhecimento - tradicional (em vasilhas de madeira) ou alternativos (em depósitos, normalmente de aço inoxidável com adição de fragmentos de madeira) - e o tempo.

I.2.1. A madeira

Importância histórica da madeira

As vasilhas de madeira são utilizadas há pelo menos 2000 anos, quer para o transporte quer para a conservação de vinhos. Apesar de terem aplicações noutras atividades tais como o transporte de produtos alimentares e a curtimenta da azeitona, entre outros, cedo se reconheceu a influência da madeira na qualidade dos produtos víquicos (Ribereau-Gayon, 1931; Singleton, 1974; Marché *et al.*, 1975; Riberon-Gayon 1976; Dubois 1989; Moutounet *et al.*, 1999).

No século XX, após a primeira Guerra Mundial, a indústria de tanoaria foi alvo de uma considerável mecanização e conheceu um importante desenvolvimento. Contudo, a utilização de vasilhas de madeira foi diminuindo gradualmente, devido ao aparecimento de outros materiais, como o zinco, o cimento armado e o plástico (Nobre da Veiga, 1954) que ofereciam consideráveis vantagens económicas.

A madeira constitui o elemento fulcral do envelhecimento de aguardentes, quer no sistema tradicional (em vasilhas de madeira), quer nos sistemas alternativos (em depósitos de aço inoxidável com fragmentos de madeira).

I.2.1.1. Composição química da madeira

A matéria seca da madeira é basicamente constituída por dois grupos de compostos: os de massa molecular alta – polissacáridos (celulose e hemiceluloses), lenhina, proteínas e pectinas – e os de massa molecular baixa – orgânicos ou extraíveis, e inorgânicos ou cinzas (Fengel e Wegener, 1989).

Os compostos de massa molecular alta são os mais representativos, tanto do ponto de vista quantitativo (cerca de 90% de matéria seca) como do ponto de vista estrutural, devido

à sua inclusão na malha lenho-celulósica, elemento fundamental da parede celular. Já os compostos de massa molecular baixa, embora menos representativos (apenas 10% da matéria seca), apresentam grande importância nas propriedades e qualidades tecnológicas da madeira. Estes compostos podem ser derivados dos biopolímeros de massa molecular alta ou ser depositados pela seiva, sem participar na estrutura da parede celular (Masson *et al.*, 1996). Dentro deste grupo, os compostos extraíveis, englobam um vasto conjunto de compostos, desde os mais simples - ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos, cumarinas, lenhanas, fenil cetonas, ésteres fenólicos, entre outros, até aos mais complexos - os taninos (Puech e Moutounet; 1988; Viriot *et al.*, 1993; Canas *et al.*, 2000b; Canas, 2003; Jordão *et al.*, 2005; Patricio *et al.*, 2005; Canas *et al.*, 2006; Caldeira *et al.*, 2006). De entre estes, destacam-se os compostos fenólicos por serem suscetíveis a consideráveis modificações por via química e bioquímica, devido à sua elevada reatividade (Ribereau-Gayon, 1968) e por influenciarem as propriedades da madeira e da aguardente que nela venha a envelhecer. Por este motivo serão alvo de uma abordagem mais detalhada.

Os compostos fenólicos caracterizam-se por possuírem pelo menos um grupo hidroxilo ligado a um anel benzénico. Podem ser enquadrados, de acordo com a sua estrutura química, em duas grandes classes: os flavonóides e os não-flavonóides. Na madeira utilizada em tanoaria predominam os compostos fenólicos não-flavonóides, designadamente os ácidos fenólicos e os aldeídos fenólicos (Canas, 2003).

Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos, detetados nas madeiras utilizadas em tanoaria (carvalho e castanheiro), caracterizam-se por possuírem estruturas em C₇ (C₆-C₁) e em C₉ (C₆-C₃), cujo número de átomos de carbono os distingue em ácidos benzóicos e cinâmicos, respetivamente - Figura 1.2., encontrando-se normalmente esterificados com a glucose (Ribereau-Gayon, 1968; Seikel *et al.*, 1971; Monties, 1992) - Figura 1.2.



Figura 1.2. Estruturas químicas dos ácidos fenólicos

Aldeídos fenólicos

Os aldeídos fenólicos, resultantes da degradação das lenhinas, tal como os ácidos fenólicos, podem encontrar-se na forma livre ou ligados aos constituintes da parede celular (Puech e Mosedale, 1998). Podem ser classificados, em função do número de átomos de carbono, em benzóicos (C₇) e cinâmicos (C₉), ou pelo número de grupos metoxilo, em guaiacilo (monometoxilados) e siringilo (bimetoxilados) - Figura 1.3.

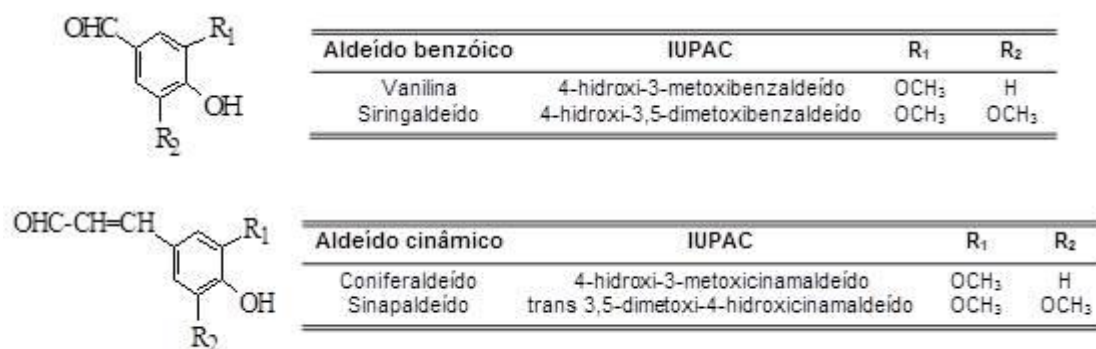


Figura 1.3. Estruturas químicas dos aldeídos fenólicos

Taninos

Segundo a classificação mais usual, este grupo de compostos inclui os taninos hidrolizáveis e os taninos condensados ou proantocianidinas. Os últimos encontram-se vestigialmente na madeira e possuem como unidade estrutural o 3-flavanol (Scalbert *et al.*, 1989; Chatonnet, 1995). Os taninos hidrolizáveis, apresentam como unidade estrutural uma molécula de açúcar (normalmente D-glucose), esterificada com o ácido gálgico (galhotaninos) ou com o ácido hexahidroxidifenílico (elagitaninos) e que, por hidrólise, originam o ácido gálgico ou o ácido elágico, respetivamente (Bate-Smith, 1977) – Figura 1.5.

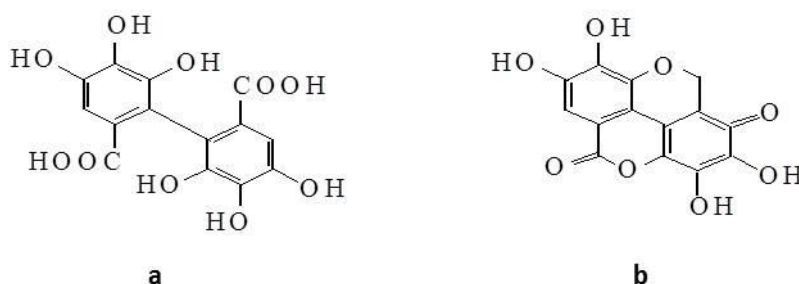


Figura 1.5. Estruturas químicas do ácido hexahidroxidifenílico (a) e da sua dilactona, o ácido elágico (b).

Nas madeiras de carvalho e de castanheiro, foram detetados oito elagitaninos, quatro monómeros e quatro dímeros, sendo mais frequentes as formas monómeras

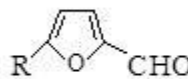
correspondentes à vescalagina e à castalagina (Scalbert *et al.*, 1990; Viriot *et al.*, 1994; Simón *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 2004; Jordão *et al.*, 2005).

A concentração destes compostos na madeira é variável de acordo com a espécie botânica (Simón *et al.*, 1998) e com a origem geográfica, tendo sido observado relativamente à espécie que a madeira de carvalho apresenta maior concentração em taninos elágicos que a de castanheiro (Vivas *et al.*, 1996).

Relativamente aos galhotaninos foi apenas detetado um monómero (monogalhoilglucose) na madeira de castanheiro (Canas *et al.*, 2004).

Aldeídos furânicos

Os aldeídos furânicos são compostos heterocíclicos que contêm um anel furânico (Campos, 1987) – Figura 1.4. Estes compostos resultam essencialmente da degradação dos polissacáridos durante o tratamento térmico da madeira. Na madeira não queimada não têm sido possível a sua quantificação (Chatonnet *et al.*, 1989; Marco *et al.*, 1994; Canas *et al.*, 2000b).



Aldeído furânico	IUPAC	R
Furfural	2-furancarboxaldeído	H
5-metilfurfural	5-metil-2-furancarboxaldeído	CH ₃
5-hidroximetilfurfural	5-hidroximetil-2-furancarboxaldeído	CH ₂ OH

Figura 1.4. Estruturas químicas dos aldeídos furânicos

Importa salientar que, a composição química da madeira é caracterizada por uma elevada variabilidade, na dependência principalmente da espécie botânica (Fengel e Wegener, 1989; Mosedale, 1995; Canas *et al.*, 1999; Canas *et al.*, 2000a; Prida *et al.*, 2006; Jordão *et al.*, 2005; Jordão, 2007), e também da origem geográfica (Miller *et al.*, 1992; Canas *et al.*, 2000b; Caldeira *et al.*, 2002; Doussout *et al.*, 2002; Caldeira *et al.*, 2006), da localização da floresta, da gestão silvícola (Chatonnet, 1995), da árvore (Masson *et al.*, 1995) e da idade da árvore (Peng *et al.*, 1991; Singleton, 1995; Feuillat e Keller, 1997; Carvalho, 1998; Mosedale, 1999).

I.2.1.2. Aptidão da madeira para tanoaria

A aptidão da madeira para a tanoaria encontra-se estreitamente associada às suas características físicas, mecânicas (Mosedale, 1995) e químicas (Guichard, 1995; Carvalho, 1997; Canas, 2003; Caldeira, 2004).

As características da madeira pretendidas para a produção de vasilhas são: fácil

fendimento, boa flexibilidade, bom isolamento térmico, suficiente dureza e durabilidade, composição química adequada e porosidade ligeira (Feuillat e Keller, 1997). A madeira utilizada deve ter uma porosidade que garanta a estanquicidade da vasilha, mas que permita trocas gasosas, possibilitando a ocorrência dos fenómenos físico-químicos característicos deste sistema de envelhecimento, tais como a oxidação lenta e contínua, a extração de compostos da madeira e a evaporação (Vivas e Glories, 1993; Moutounet *et al.*, 1998; Singleton, 1995; Canas *et al.*, 2002).

Nos sistemas alternativos, os requisitos exigidos relativamente à madeira são menores, sendo apenas necessário garantir uma composição química e uma porosidade adequadas (Fan *et al.*, 2006).

Como nem todas as espécies botânicas apresentam estas características, torna-se fundamental proceder à sua identificação na seleção da madeira para tanoaria (Canas, 2003).

A madeira mais utilizada em tanoaria, é a de carvalho. As espécies que se destacam são: *Quercus robur* L., predominantemente da região de Limousin (França), *Quercus sessiliflora* Salisb., sobretudo da região de Allier (França) e *Quercus Alba* L. (Estados Unidos da América).

Contudo, investigações realizadas sobre a madeira de castanheiro (*Castanea sativa* Mill.) revelaram a sua aptidão para este fim (Carvalho, 1998; Canas *et al.*, 2000a; Belchior *et al.*, 2001; Caldeira *et al.*, 2006; Canas *et al.*, 2011), desde que as tecnologias florestal e de tanoaria garantam a inexistência de nós (que comprometem a estanquicidade da madeira destinada ao fabrico de vasilhas). Nestes estudos, o carvalho português (*Quercus pyrenaica* Willd.) também se revelou interessante, embora não tão incisivamente como o castanheiro.

Por outro lado, as madeiras de carvalho do leste da Europa, conjuntamente com o carvalho americano, são cada vez mais procuradas pela tanoaria europeia devido à sua qualidade, baixo custo e maior disponibilidade (Prida *et al.*, 2006).

Recentemente, Rosso *et al.* (2009), Simón *et al.* (2009), Madrera *et al.* (2010) e Sanz *et al.* (2010) e Soares *et al.* (2012), realizaram estudos em que procuram determinar a viabilidade da utilização de outras madeiras sob a forma de fragmentos no envelhecimento de vinho e derivados - aguardentes e vinagre: acácia (*Robinia pseudoacacia* L.); cerejeira (*Prunus avium* L.); freixo (*Fraxinus excelsior* L.); amieiro (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertner); faia (*Fagus sylvatica* L.); amoreira (*Morus alba* L. e *Morus nigra* L.). Os resultados obtidos com a amoreira, a acácia e a cerejeira revelaram-se promissores para o fim em vista.

I.2.1.2.1. Influência da tecnologia de tanoaria na composição da madeira

No sistema tradicional, assim como nos sistemas alternativos, a tecnologia de tanoaria irá condicionar as características químicas da madeira, bem como as características físico-químicas e organolépticas da aguardente que nela venha a envelhecer.

A este nível as operações mais relevantes para a qualidade da vasilha são a secagem/maturação e, sobretudo, o tratamento térmico da madeira.

Secagem/ maturação

Nesta etapa pretende-se reduzir a humidade das pranchas de madeira até aos 13-15% para que, na formação da vasilha, haja estabilidade mecânica do conjunto de aduelas que a constituem (Chatonnet *et al.*, 1994). A secagem pode processar-se de forma natural ou artificial, sendo a primeira mais demorada e menos económica. Até hoje, alguns autores (Chatonnet *et al.*, 1994; Vivas *et al.*, 1997; Masson *et al.*, 2000) consideram que a secagem natural é a forma mais adequada para este fim, pelos efeitos que produz ao nível das características físicas e químicas da mesma, aceitando a secagem artificial como complemento da natural. Com efeito, demonstrou-se que, na secagem natural, para além da perda de humidade, ocorrem fenómenos fulcrais de natureza química, física e bioquímica (com a interferência de diversos microrganismos, tais como fungos e bactérias), que afectam os compostos de massa molecular alta e os extraíveis da madeira (Peng *et al.*, 1991; Chatonnet, 1995; Vivas *et al.*, 1997; Masson *et al.*, 2000; Canas *et al.*, 2006) e que constituem a maturação.

As características do processo, a duração e o local onde decorre, conjuntamente com as características da madeira (ver I.2.1.1.), contribuem para a variabilidade da composição química da madeira (Mosedale, 1995; Spillman *et al.*, 1997).

A tecnologia utilizada no fabrico dos fragmentos é idêntica à do fabrico das vasilhas no que diz respeito à secagem/maturação da madeira.

Tratamento térmico

Vasilha de madeira

O tratamento térmico da vasilha de madeira subdivide-se em duas fases: a vergatura e a queima.

A vergatura corresponde à primeira etapa, que envolve o humedecimento e o aquecimento (recorrendo a um fogacho, na técnica europeia, e a vapor de água, na técnica americana), simultâneo das aduelas da vasilha. Estas condições promovem o aumento da plasticidade das fibras da madeira e evitam a ruptura das aduelas, tendo como objetivo

conferir a forma característica à vasilha, embora provoquem importantes transformações na composição química da madeira (Chatonnet, 1995; Canas *et al.*, 2000c; Canas, 2003; Canas *et al.*, 2007).

Na queima, correspondente à segunda etapa, vão ocorrer as maiores modificações na composição química da madeira (Chatonnet, 1995), e que irão reflectir-se nas características da aguardente vínica envelhecida.

Os níveis de queima podem ser designados por queima ligeira (QL), média (QM) e forte (QF), consoante a temperatura e o tempo de queima (Canas, 2003). No entanto, existem outros aspetos técnicos que contribuem também para a alteração estrutural e química da madeira associada a cada nível de queima (Chatonnet *et al.*, 1993; Hale *et al.*, 1999), ao provocar a transformação dos biopolímeros e a composição em termos de compostos extraíveis (Chatonnet, 1989; Chatonnet, 1995; Leauté, 1990; Canas *et al.*, 2000c; Caldeira, 2004; Campbell *et al.*, 2005; Canas *et al.*, 2007).

A queima tem ação degradativa sobre as macromoléculas da madeira, afectando de forma acentuada os compostos extraíveis da madeira em função da sua intensidade (Nishimura *et al.*, 1983; Chatonnet *et al.*, 1989; Sarni *et al.*, 1990; Canas *et al.*, 2000c; Caldeira *et al.*, 2006; Canas *et al.*, 2007). A lenhina, precursor dos compostos fenólicos extraíveis, inicia a sua degradação aos 120-150 °C, começando por originar os aldeídos cinâmicos e, com o aumento da temperatura, os aldeídos benzóicos (Sarni *et al.*, 1990; Rabier e Moutounet, 1991; Chatonnet, 1995). Continuando o acréscimo de temperatura, os aldeídos fenólicos transformar-se-ão em ácidos fenólicos e estes, depois, poderão ser precursores dos fenóis voláteis eugenol e gaiacol (Sarni *et al.*, 1990; Caldeira *et al.*, 2004).

Fragmentos de madeira

A operação de tratamento térmico dos fragmentos de madeira restringe-se à queima, que é efetuada em fornos especificamente concebidos para o efeito, os quais permitem um controlo mais rigoroso da temperatura e do tempo e, assim, a obtenção de um nível de queima (QL, QM, QF) mais uniforme, que terá certamente importantes implicações nas características da madeira queimada.

I.2.2. O processo de envelhecimento

O envelhecimento da aguardente vínica em madeira é de extrema importância, já que a madeira é a única fonte de compostos fenólicos e de alguns derivados furânicos da aguardente (Canas, 2003). Estes compostos extraíveis da madeira apresentam um papel relevante na alteração do aroma, do sabor e da cor inicial da aguardente, conferindo-lhe as características que a diferenciam (Canas, 2003; Caldeira, 2004). É durante o processo de envelhecimento que ocorrem vários fenómenos de interação entre compostos do destilado e

da madeira, os quais contribuem para o aumento da complexidade da mesma ao longo do tempo (Puech *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 1999; Canas *et al.*, 2000a; Belchior *et al.*, 2001; Canas *et al.*, 2002; Belchior *et al.*, 2003; Patrício *et al.*, 2005; Caldeira *et al.*, 2006). Com efeito, trata-se de um processo complexo, que envolve a impregnação da aguardente na madeira, bem como a extração e a difusão dos compostos extraíveis da madeira para a aguardente (Singleton, 1995; Canas *et al.*, 2002; Patrício *et al.*, 2005; Canas *et al.*, 2008) na presença de oxigénio (Belchior e San-Romão, 1982; Moutounet *et al.*, 1998), a par dos fenómenos de evaporação e de concentração (Puech *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 2002; Patrício *et al.*, 2005).

A extração é um fenómeno que ocorre na madeira quando impregnada pela aguardente, pelo que a taxa de extração dos compostos depende essencialmente da profundidade de impregnação e da subsequente transferência de compostos para a aguardente (Puech e Mosedale, 1998; Canas *et al.*, 2002; Patrício *et al.*, 2005), sendo dependente das características do destilado e da madeira (Canas *et al.*, 2002; Belchior *et al.*, 2003). As reações de oxidação que, segundo Belchior e San-Romão (1982), são inerentes ao fenómeno de extração, têm um papel preponderante na composição físico-química da aguardente vínica envelhecida.

Relativamente à evolução da composição química da aguardente ao longo do envelhecimento, importa destacar o papel dos derivados da lenhina, dos elagitaninos e dos derivados furânicos.

Para além dos compostos derivados da lenhina que se encontram no estado livre na madeira por via da queima (ver I.2.1.2.1.) ainda ocorre degradação da lenhina pela aguardente, por hidroalcoólise (Puech e Sarni, 1990) - Figura 1.6.- que contribui para o enriquecimento da aguardente nestes compostos.

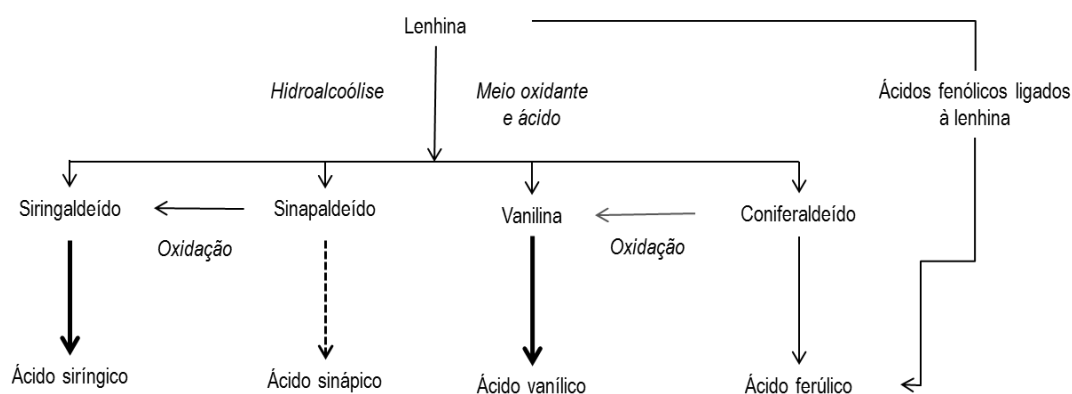


Figura 1.6. Esquema da degradação da lenhina

Os elagitaninos caracterizam-se pela elevada solubilidade em meio hidralcoólico, sendo facilmente extraíveis pela aguardente. Desta forma, verifica-se que 41-66% da concentração total de taninos totais presente na madeira de carvalho é transferida para a aguardente sobretudo nos três ou quatro primeiros anos de envelhecimento (Puech *et al.*, 1985). No entanto, a concentração de elagitaninos presentes nas aguardentes velhas é reduzida. Este fato pode ser devido a vários fenómenos, tais como a hidrólise e as interações com macromoléculas e consequente precipitação dos complexos formados (Viriot *et al.*, 1993). Os elagitaninos podem originar, por hidrólise, ácido elágico cujo teor tende a aumentar com o tempo de envelhecimento (Viriot *et al.*, 1994). Esta evolução contribui para o amaciamento da aguardente ao longo do tempo (Deibner *et al.*, 1976).

No respeitante aos derivados furânicos, o furfural existente na aguardente vínica envelhecida é originado a partir das pentoses das hemiceluloses da madeira durante o tratamento térmico (Hodge, 1967; Canas *et al.*, 2007), embora já exista no destilado (Onishi *et al.*, 1977; Jeuring e Kupperts, 1980; Caldeira *et al.*, 2010). As possíveis reações que podem ocorrer entre o furfural e os taninos conduzem à formação de compostos de condensação, os quais podem contribuir para o acastanhamento da aguardente (Es-Safi, 2002). As hexoses da celulose originam o 5-hidroximetilfurfural e o 5-metilfurfural (Barbe *et al.*, 1998) aquando do tratamento térmico, ficando estes compostos disponíveis para serem cedidos pela madeira à aguardente vínica durante o envelhecimento.

Os compostos presentes na aguardente envelhecida em madeira dependem pois dos fenómenos ocorridos durante o envelhecimento, os quais são governados por fatores como a espécie botânica e o tratamento térmico da madeira.

Influência da espécie botânica da madeira nas características da aguardente vínica

A espécie botânica da madeira determina as características físico-químicas e organolépticas e, consequentemente, a qualidade de aguardente envelhecida. Belchior *et al.* (2001) observaram diferenciação significativa das aguardentes em estudo relativamente ao índice de polifenóis totais e à intensidade da cor em função da espécie botânica da madeira utilizada no envelhecimento. Os resultados obtidos para estas características físico-químicas, demonstram uma mais rápida evolução das aguardentes envelhecidas em vasilhas de castanheiro e de carvalho português relativamente às envelhecidas em carvalhos franceses (Allier e Limousin) e americano. Outros trabalhos evidenciam a correlação entre a composição química da espécie botânica da madeira e a da aguardente nela envelhecida (Canas, 2003; Caldeira, 2004). Canas (2003) verificou que a aguardente envelhecida em madeira de carvalho americano apresenta um menor teor de ácidos e aldeídos fenólicos relativamente às aguardentes envelhecidas em madeira de castanheiro e

de carvalhos portugueses e franceses (Allier e Limousin), em concordância com as características das madeiras respectivas. Neste, e em trabalhos posteriores, é evidenciado o papel dos ácidos gálico e elágico como marcadores químicos das madeiras de castanheiro e de carvalho, respetivamente, usadas no envelhecimento das aguardentes vínicas (Canas *et al.*, 2011). Concordantemente com os resultados obtidos relativos à composição química, Caldeira *et al.* (2006) concluíram que as características sensoriais também permitem inferir sobre a espécie botânica da madeira em contacto com a aguardente a envelhecer.

Apesar da comprovada aptidão da madeira de castanheiro para tanoaria e para o envelhecimento de aguardente vínica, a sua utilização para este fim ainda não é autorizada pela União Europeia.

Influência do tratamento térmico da madeira nas características da aguardente vínica

Belchior *et al.* (2001), ao avaliarem aguardentes com cinco anos de envelhecimento em madeiras de carvalho e de castanheiro sujeitas a diferentes níveis de queima, verificaram que este fator tem um efeito significativo sobre o índice de polifenóis totais e a intensidade da cor.

Em termos de compostos fenólicos extraíveis presentes na aguardente, Canas (2003) constatou que ao aumento do nível de queima corresponde: um aumento contínuo e muito significativo dos teores de ácido elágico, vanílico, siríngico e ferúlico, e uma diminuição de ácido gálico a partir da queima média, em consonância com o seu comportamento na madeira; um acréscimo muito significativo dos teores de aldeídos fenólicos. Quanto aos derivados furânicos, a presença do furfural é despoletada pela degradação térmica das hemiceluloses, termossensíveis, sendo maior na madeira queimada (Chatonnet, 1995; Spillman *et al.*, 1997). O mesmo não acontece com o hidroximetilfurfural e o 5-metilfurfural que se encontram em teores baixos comparativamente ao furfural, provavelmente devido à resistência térmica do seu precursor, a celulose (Hodge, 1967).

I.2.2.1 Sistemas de envelhecimento

Com o objetivo de acelerar o processo de envelhecimento e de o tornar mais económico, almejando sempre elevados padrões de qualidade, e até promover uma utilização sustentável dos recursos naturais, têm sido realizados diversos estudos, visando a otimização do envelhecimento tradicional, através da manipulação dos fatores que o governam, nomeadamente a espécie botânica da madeira, o nível de queima e a dimensão da vasilha (Canas *et al.*, 2002; Belchior *et al.*, 2005; Caldeira *et al.*, 2006; Canas *et al.*, 2007; Canas *et al.*, 2008).

I.2.2.1.1. Sistema tradicional

No sistema tradicional, a qualidade do produto final está intimamente relacionada com:

- i) as características da vasilha, designadamente a espécie botânica da madeira (ver I.2.2.), o processo de fabrico da vasilha (ver I.2.1.2.1.), a sua dimensão e o seu estado de utilização;
- ii) as condições da cave.

Dimensão da vasilha

A dimensão da vasilha condiciona as cinéticas de extração/oxidação, e de evaporação/impregnação da aguardente (Singleton, 1995; Canas *et al.*, 2002; Escalona *et al.*, 2002; Belchior *et al.*, 2005; Canas *et al.*, 2008).

Belchior *et al.* (2005) ao compararem aguardentes vínicas envelhecidas em vasilhas de 250 dm³ e de 650 dm³ observaram maiores teores de polifenóis totais e extrato seco associados às vasilhas de menor dimensão. Canas *et al.* (2008) verificaram que este efeito ocorre nos primeiros dois anos de envelhecimento, após os quais surge uma inversão, sendo as vasilhas de 650 dm³ as que apresentam maior potencial de extração, possibilitando um maior número de reutilizações.

Estado de utilização da vasilha

O estado de utilização da vasilha – nova ou usada - pode ser uma forma de regulação das reações que ocorrem durante o envelhecimento (Gambutí *et al.*, 2010). Belchior (1986), constatou que deve utilizar-se vasilhas novas nos dois primeiros anos de envelhecimento da aguardente vínica, e vasilhas usadas nos anos consecutivos para que a extração não seja excessiva provocando um desequilíbrio aromático, e para que a oxidação se torne predominante (Canas, 2003), contribuindo para o amaciamento e o aumento da complexidade organoléptica da aguardente.

Condições da cave

A humidade relativa, a temperatura e a circulação do ar influenciam as perdas de volume de aguardente por evaporação e, consequentemente, o título alcoométrico volúmico e a composição volátil da aguardente vínica (Cantagrel *et al.*, 1992; Nishimura *et al.*, 1989). As condições da cave mais adequadas para o envelhecimento são: humidade relativa próxima de 90%; temperatura inferior a 20 °C; e amplitude térmica baixa - inferior a 4° C por ano; circulação de ar diminuta (Belchior, comunicação pessoal).

Apesar da evolução do conhecimento e do seu reflexo na tecnologia de produção de aguardente vínica envelhecida em sistema tradicional, que tem permitido tornar mais rentável esta atividade e garantir a qualidade, os custos inerentes à vasilha de madeira, à

imobilização da aguardente durante um período de tempo mais ou menos longo e às perdas por evaporação (Moutounet *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 2002) não podem ser ignorados. Neste contexto surge o interesse pelos sistemas alternativos de envelhecimento. Contudo, esta via não pressupõe o abandono do sistema tradicional no curto-médio prazo, na medida em que este está associado à obtenção de aguardentes de elevada qualidade. A coexistência de sistemas encontra justificação, pelo menos no presente, como uma forma de garantir o rendimento do produtor de aguardente através da comercialização de aguardentes muito jovens de boa qualidade (VS), produzidas em sistemas alternativos, a par da produção de aguardentes mais velhas (VSOP e sobretudo XO) que implicam maior retenção de capital (ver I.2.3.).

I.2.2.1.2. Sistemas alternativos

Foram realizados diversos estudos recorrendo a sistemas alternativos para o envelhecimento de vinho (Araptisas *et al.*, 2004; Clímaco *et al.*, 2004; Del Álamo *et al.*, 2004; Ortega-Heras *et al.*, 2004; Jordão *et al.*, 2005; Guchu *et al.*, 2006; Del Álamo *et al.*, 2006; Eiriz, 2007; Frangipane *et al.*, 2007; Sartini *et al.*, 2007; Nevares *et al.*, 2008; Koussissi *et al.*, 2009; Nevares *et al.*, 2009; Pérez-Magariño *et al.*, 2009; Del Álamo *et al.*, 2010; Simón *et al.*, 2010; Cabrita *et al.*, 2011; Soares *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2012), bem como para o envelhecimento dos seus derivados: o vinagre (Moralles *et al.*, 2004; Tesfaye *et al.*, 2004) e a aguardente (Belchior *et al.*, 2003; Madrera *et al.*, 2003; Canas *et al.*, 2009a,b; Caldeira *et al.*, 2010; Canas *et al.*, 2013b). Sistemas alternativos para o envelhecimento de outras bebidas, tais como a sidra, o rum, o whisky, o sake têm sido também alvo de investigação (Martinez *et al.*, 2001; Chang *et al.*, 2004; Fan *et al.*, 2006). Watson e Watson (2010) patentiaram um método de aceleração do processo de envelhecimento de bebidas alcoólicas sem quaisquer perdas, recorrendo a altas pressões.

Os trabalhos sobre o envelhecimento de vinho, evidenciaram que esta nova tecnologia é profícua para reduzir os custos, assegurado a qualidade do produto final (Arapitsas *et al.*, 2004; Del Álamo *et al.*, 2004; Frangipane *et al.*, 2007; Del Álamo *et al.*, 2008) com estabilização da cor, diminuição de adstringência e da presença de notas herbáceas (Moutounet 1998; Kelly e Wollan, 2003).

Contudo, é sabido que a composição química do vinho é diferente da composição química da aguardente vínica, sobretudo ao nível da constituição fenólica, que é ausente no destilado (ver I.1.1.), obtendo-se exclusivamente no seu envelhecimento.

Em aguardentes vínicas constatou-se que, a dimensão dos fragmentos (Belchior *et al.*, 2005; Canas *et al.*, 2009 a,b; Caldeira *et al.*, 2010; Canas *et al.*, 2013b), a quantidade utilizada e o tempo de contacto com a aguardente (Afonso, 2002), bem como a possibilidade de recorrer à micro-oxigenação (Belchior *et al.*, 2003; Canas *et al.*, 2009a) condicionam

também a qualidade do produto final, tanto do ponto de vista físico-químico como organoléptico.

Surgem assim, formas alternativas em que a qualidade do produto final está dependente dos fatores referidos, a par do nível de queima e da espécie botânica, que influenciam as cinéticas de extração/oxidação e a difusão dos compostos extraíveis da madeira (Afonso, 2002; Fan *et al.*, 2006).

Neste contexto, Belchior *et al.* (2003) efectuaram uma primeira abordagem, em escala laboratorial, ao estudo de envelhecimento de aguardente Lourinhã em madeira de castanheiro e de carvalho Limousin, em forma de micro-aparas e toros, com o objetivo de monitorizar a cinética de extração de compostos fenólicos da madeira pela aguardente e explorar a potencialidade da oxigenação nas diversas amostras durante 45 dias. Verificaram que a oxigenação não se revelava particularmente interessante para o aumento da intensidade da cor da aguardente, mas afetava significativamente o índice de polifenóis totais e o extrato seco, crescentes ao longo do tempo. Relativamente à forma da madeira, constataram que a aguardente em contacto com os toros apresentava teores mais elevados de compostos de massa molecular baixa do que a que contactou com as micro-aparas.

Recentemente, num outro projeto efetuado em escala piloto, foram avaliados os efeitos de diferentes sistemas de envelhecimento, conjuntamente com a espécie botânica (castanheiro e carvalho Limousin) e com oxigenação, nas características físico-químicas e organolépticas de uma aguardente Lourinhã ao longo de dois anos e meio de envelhecimento. Este estudo envolveu três sistemas de envelhecimento: vasilhas de madeira de 650 dm³; depósitos de aço inoxidável de 40 dm³ com aduelas e depósitos de aço inoxidável de 40 dm³ com dominós, com 2 repetições por modalidade. A quantidade de aduelas e de dominós foi calculada por forma a respeitar a relação superfície/volume de uma vasilha de 650 dm³ (Canas *et al.*, 2009a,b; Caldeira *et al.*, 2010; Canas *et al.*, 2013b). Os resultados obtidos demonstraram que: não ocorreu estabilização da cor associada ao maior aporte e consumo de oxigénio como tem sido referido para o vinho; o castanheiro é efetivamente uma madeira com grande interesse para o envelhecimento da aguardente, independentemente do sistema de envelhecimento; os sistemas alternativos parecem acelerar o envelhecimento da aguardente vínica; as características físico-químicas e organolépticas das aguardentes vínicas obtidas nos diferentes sistemas permitem distingui-las entre si, no entanto, a sua qualidade organoléptica não é significativamente afectada; a composição química e a cor das aguardentes vínicas encontram-se estreitamente relacionadas com os sistemas de envelhecimento, sugerindo o envolvimento de muitos constituintes e de diversos fatores que os governam.

Justifica-se, portanto, novas investigações que elucidem o papel dos compostos fenólicos e não fenólicos e os mecanismos envolvidos no envelhecimento, que permitirão

um estudo mais aprofundado desta etapa de produção da aguardente envelhecida e uma otimização dos fenómenos inerentes, visando obter suporte científico para a autorização da utilização destes sistemas alternativos na produção de aguardente vínica envelhecida, pela União Europeia.

I.2.3. O tempo de envelhecimento

O tempo de envelhecimento constitui outro fator determinante nas características da aguardente vínica. Em regiões onde a aguardente produzida não tem direito a D.O., o tempo de envelhecimento é de, no mínimo, de seis meses (Reg. CE 110/2008). Em aguardentes produzidas em D.O., o tempo de envelhecimento mínimo varia consoante a região: um ano para Armagnac (Décret n° 2009-1285), dois anos para Cognac (Décret n° 2009-1146) e para a Lourinhã (DL n° 323/94).

A Lourinhã, à semelhança de Cognac e Armagnac, recorre às seguintes designações comerciais para a aguardente envelhecida: VS – Very Special ou *** (três estrelas) – envelhecida durante dois anos; VSOP – Very Special Old Pale, Reserva ou ***** (cinco estrelas) – com dois a cinco anos de envelhecimento; XO – Extra Old – com envelhecimento superior a cinco anos.

De acordo com Puech *et al.* (1985), Canas *et al.* (2002) e Belchior *et al.* (2003), o tempo de envelhecimento apresenta um efeito extremamente importante na composição química da aguardente, designadamente nos teores dos compostos fenólicos de massa molecular baixa. A tendência geral é para o seu aumento ao longo do tempo, mais significativo no primeiro ano e, particularmente no primeiro mês, e a partir daí o incremento torna-se menos acentuado, devido à diminuição da importância da extração relativamente à oxidação.

II. MATERIAL E MÉTODOS

II.1. Delineamento experimental

Com o objetivo de avaliar os efeitos do tipo de sistema de envelhecimento e do tempo de envelhecimento nas características da aguardente vínica, a mesma aguardente vínica branca “Lourinhã” foi colocada em duas vasilhas e em dois depósitos de aço inoxidável, com duas madeiras em simultâneo e intercaladas - castanheiro e carvalho francês Limousin. A quantidade de aduelas (91 cm x 5 cm x 1,8 cm) utilizadas em cada depósito foi calculada de forma a respeitar a relação superfície/volume de uma vasilha de 650 dm³ - Figura 2.1.

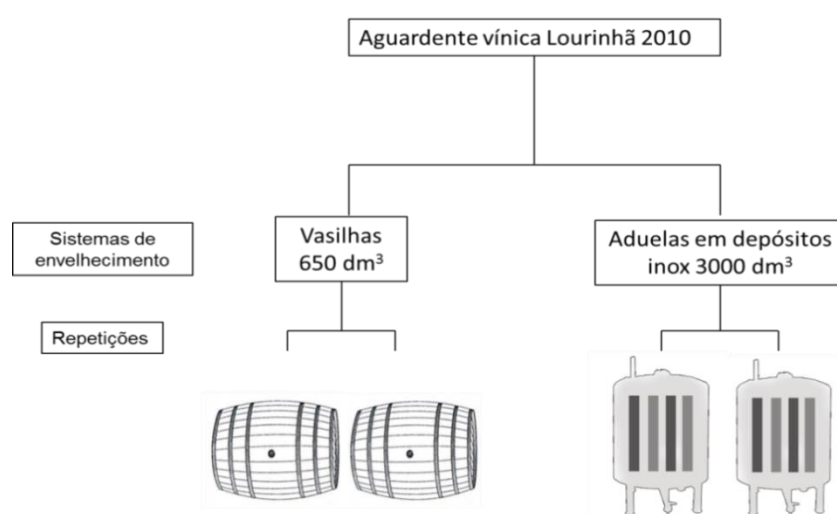


Figura 2.1. Esquema do ensaio

Procedeu-se à amostragem das aguardentes ao fim de 8, 15, 90 e 180 dias de envelhecimento. Trata-se, portanto, de um ensaio baseado num fatorial com dois fatores (sistema de envelhecimento e tempo), tendo o sistema de envelhecimento dois níveis e com duas repetições e o tempo de envelhecimento quatro níveis. Um total de 16 amostras foram obtidas para análise.

Durante o período de envelhecimento, de Julho a Dezembro de 2011, procedeu-se à agitação mensal das aguardentes, em vasilha e em depósito de aço inoxidável.

II.2. Material

II.2.1. Aguardente

As características analíticas da aguardente branca utilizada, obtida por destilação contínua, são: título alcoométrico volúmico - 77,3% v/v, acidez total - 12,5 g.100 dm⁻³ A.P. (expressa em ácido acético); acetaldeído - 1,81 g.100 dm⁻³ A.P.; acetato de etilo - 88,95

g.100 dm⁻³ A.P.; metanol - 53,84 g.100 dm⁻³ A.P.; 1-propanol - 34,85 g.100 dm⁻³ A.P. v/v; álcool isobutílico 91,88 g.100 dm⁻³ A.P.; álcool isoamílico 176,65 g.100 dm⁻³ A.P..^{*1}

É de salientar que o teor de metanol (inferior a 200 g.100 dm⁻³ A.P.) e o teor de substâncias voláteis (superior a 125 g.100 dm⁻³ A.P.) da aguardente estão de acordo com os requisitos do Reg. CE nº 110/2008.

II.2.2. Madeiras

As madeiras utilizadas neste ensaio, fornecidas pela tanoaria J. M. Gonçalves (Palaçoulo – Miranda do Douro), foram o castanheiro (*Castanea sativa* Mill.) e o carvalho francês Limousin (*Quercus robur* L.), provenientes de Bornes (Portugal) e de Limousin (França), respetivamente.

Relativamente à tecnologia de tanoaria, importa especificar as condições de secagem e de tratamento térmico das madeiras. As madeiras, destinadas ao fabrico das vasilhas e à produção de aduelas, foram sujeitas a um processo de secagem ao ar livre durante aproximadamente três anos.

O tratamento térmico das vasilhas foi realizado de acordo com o processo tradicional, com um tempo de duração de 90 minutos – 40 minutos de vergatura e 50 minutos de queima (média mais - QM+), com a temperatura a aumentar gradualmente entre 100 °C e 250 °C, em qualquer das fases. As aduelas utilizadas nos depósitos de aço inoxidável, foram tratadas termicamente num forno industrial a uma temperatura média de 240 °C durante 90 minutos, correspondente a queima média mais (QM+).

II.3. Métodos analíticos

II.3.1. Características gerais

As aguardentes foram analisadas quanto a:

- Teor Alcoométrico Volúmico (TAV) – por destilação (Belchior e Carvalho, 1984).
- Acidez total (AT) e acidez fixa (AF) – método proposto por Belchior e Carvalho (1991).
- pH - determinação potenciométrica pelo método da OIV (OIV, 1978).

II.3.2. Índice de polifenóis totais

Os polifenóis totais das aguardentes (Ipt) foram determinados com base no resultado do produto da leitura da absorvência a 280 nm pelo fator de diluição (Ribéreau-Gayon,

¹ *As determinações destes compostos voláteis foram executadas por cromatografia gasosa segundo a norma NP 3263.

1970) num espectrofotómetro Varian Cary 100 Bio (Palo Alto, E.U.A.) e com uma célula de quartzo de 10 mm.

Procedeu-se à diluição das aguardentes com solução etanol/água (75:25 % v/v). A mesma solução foi utilizada como referência na determinação espectrofotométrica.

II.3.3. Características cromáticas

As características cromáticas das aguardentes foram determinadas através do método CIELab 76, num espectrofotómetro Varian Cary 100 Bio (Palo Alto, E.U.A.) e com uma célula de vidro de 10 mm. A leitura da transmitância foi obtida a cada 10 nm ao longo do espectro visível, entre 380 nm e 770 nm (Baker *et al.*, 1986; Barros, 1993), com o iluminante D65 e 10° de observador padrão. Os parâmetros analisados foram: luminosidade (L^*); saturação (C^*) e coordenadas rectangulares (a^* e b^*). A coordenada rectangular a^* , varia entre a cor verde (valores negativos) e a cor vermelha (valores positivos), enquanto na coordenada rectangular b^* a variação ocorre entre a cor azul (valores negativos) e a cor amarela (valores positivos). Como complemento, a cor castanha das aguardentes foi determinada através da leitura da absorvência a 470 nm (Martins e Van Boeckel, 2003), calculada a partir do valor de transmitância neste comprimento de onda constante do output do método CIELab fornecido pelo espectrofotómetro.

II.3.4. Compostos de massa molecular baixa

Utilizou-se o método cromatográfico desenvolvido e validado por Canas *et al.* (2003), para separação e quantificação dos compostos fenólicos (ácidos fenólicos e aldeídos fenólicos) e aldeídos furânicos das aguardentes vínicas.

Equipamento

Recorreu-se a um equipamento de cromatografia Líquida de alta resolução - HPLC - Lachrom Merck Hitachi (Darmstadt, Alemanha), constituído por: bomba quaternária L-7100; forno para colunas L-7350; detector UV-Vis L-7400; injector automático L-7250 com sistema de termostatização. O controlo, aquisição e tratamento de dados cromatográficos foi efetuado através do software HSM D-7000 (Merck). A deteção UV-Vis foi realizada a 280 nm para ácidos fenólicos e aldeídos furânicos, e a 320 nm para aldeídos fenólicos.

Padrões e solventes

Foram utilizados padrões de ácido gálico monohidratado, ácido elágico dihidratado, ácido vanílico, ácido sirínico, 5-hidroximetilfurfural, furfural, 5-metil-furfural, vanilina, siringaldeído, coniferaldeído, sinapaldeído e 4-hidroxibenzaldeído, sem purificação adicional, cujas características se encontram indicadas no Quadro II.1.

Os solventes utilizados foram sempre “HPLC gradient grade” (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Quadro II.1. Padrões utilizados no método cromatográfico

Composto	Pureza (%)	Marca
5-hidroximetilfurfural (HFM)	>97	Fluka
Furfural (furf)	>99	Fluka
5-metilfurfural (5mfurf)	97	Fluka
Ácido gálgico (gal)	>99	Fluka
Ácido vanílico (van)	>97	Fluka
Ácido sirínico (sg)	“purum”	Fluka
Ácido elágico (elag)	>98	Fluka
Vanilina (vanil)	>99	Fluka
Siringaldeído (sgald)	98	Aldrich
Coniferaldeído (cfald)	98	Aldrich
Sinapaldeído (snald)	98	Aldrich
4-hidroxibenzaldeído	98	Aldrich

Soluções de calibração

As soluções de calibração foram preparadas com etanol/água (75:25 % v/v), filtradas em filtro de seringa 0,45 µm (Titan Scientific Resources Ltd., Gloucester, Inglaterra) e analisadas imediatamente – Anexo 1.

Amostras

As amostras de aguardente foram apenas adicionadas de padrão interno, 4-hidroxibenzaldeído (20 mg. dm⁻³), filtradas em filtro de seringa 0,45 µm (Titan Scientific Resources Ltd, Gloucester, Inglaterra) e analisadas imediatamente por injeção direta.

Condições cromatográficas

Como fase estacionária foi selecionada uma coluna Lichrospher RP18 (Merck, Darmstadt, Alemanha), 250 mm x 4 mm (5 µm). As restantes condições cromatográficas foram: temperatura da coluna – 40 °C; débito – 1 cm³.min⁻¹; volume de injeção – 0,02 cm³; solvente A – água/ácido fórmico (98:2 % v/v); solvente B – metanol/ água/ ácido fórmico (70:28:2 % v/v/v). O programa de eluição utilizado é apresentado no Quadro II.2.

Quadro II.2. Programa de eluição do método cromatográfico

Tempo (min)	% A	% B
0	100	0
3	100	0
25	60	40
43	40	60
55	40	60
60	20	80
65	20	80
85	100	0
95	100	0

Identificação dos picos cromatográficos

A identificação dos picos cromatográficos foi efetuada por comparação dos seus tempos de retenção com os de padrões externos, bem como pelos seus espectros UV-Vis. A pureza cromatográfica dos picos e os espectros UV-Vis (200 - 400 nm) foram obtidos num sistema cromatográfico Waters, equipado com um detetor de díodos Waters 996, nas mesmas condições cromatográficas, e controlado pelo software Millenium 2010 (Waters, Milford, E.U.A.).

II.3.5. Extrato seco

O extrato seco das aguardentes foi analisado de acordo com o método usual OIV (OIV, 2014).

II.3.5.1. Ensaio baseado no método do “Extrato seco”

Na fase final do trabalho experimental, foi delineado e realizado este ensaio, na tentativa de encontrar uma explicação para a incoerência verificada entre os resultados obtidos para a composição química (extrato seco, índice de polifenóis totais e teores de compostos de massa molecular baixa) e as características cromáticas das aguardentes envelhecidas nos dois sistemas em estudo. Os detalhes sobre a seleção desta metodologia para o fim em vista, são apresentados em III.1.4..

Para o efeito, utilizaram-se amostras de um depósito (D1) e de uma vasilha (V1), com 90 e 180 dias de envelhecimento, constituindo quatro modalidades. Em cada modalidade, uma alíquota de aguardente foi utilizada como controlo e a uma outra alíquota foi aplicado o método para determinação do extrato seco. Neste último caso, o extrato seco resultante de

cada amostra (determinações feitas em triplicado) foi então sujeito à resuspensão com uma solução hidroalcoólica, cujas características eram idênticas à da aguardente controlo. Posteriormente realizaram-se as determinações analíticas indicadas na Figura 2.2..

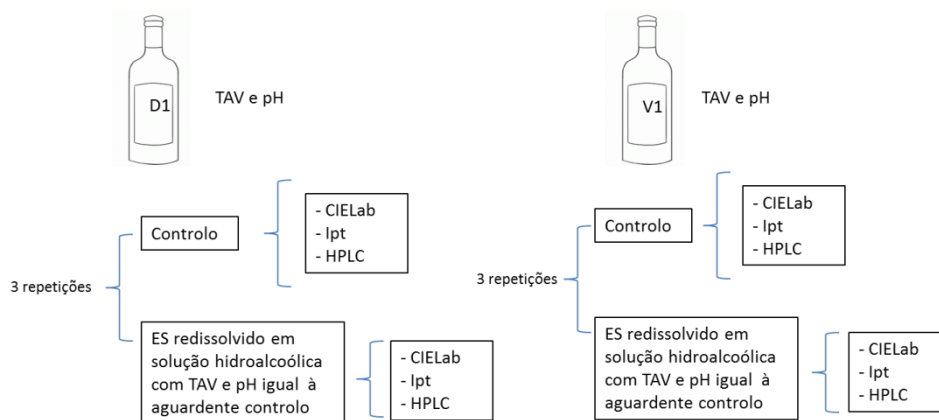


Figura 2.2. Esquema do método de determinação de “Extrato seco”

II.3.6. Teor de oxigénio dissolvido

Na medição do teor de oxigénio dissolvido das aguardentes foi utilizado um oxímetro Oxi 340-B com sonda cellox 325 (WTW, Weilheim, Alemanha), previamente calibrada. Procedeu-se a correções para ponderar o efeito da temperatura, do extrato seco e do título alcoométrico volúmico das aguardentes, recorrendo ao método de Mourges *et al.* (1973).

II.4. Prova organoléptica

O grupo de prova

O painel de prova foi composto por um grupo de provadores previamente selecionados e treinados (Caldeira *et al.*, 1999). Ao grupo de prova já constituído, por elementos do INIAV - Dois Portos e por outros elementos, foram ministradas sete sessões de treino teórico-prático, onde se aprimoraram conhecimentos já adquiridos sobre a fisiologia dos sentidos, sobre a técnica de prova e sobre os principais aspetos relativos à tecnologia de produção de aguardentes. Ao nível prático, as sessões realizadas permitiram um contacto com a prova de várias soluções de padrões e prova de aguardentes. Este treino é fundamental para memorização e adequação de vocabulário de prova, e para que o grupo de prova seja o mais fidedigno possível na realização da prova descritiva das aguardentes.

Ficha de prova

Foi realizada uma prova organoléptica descritiva quantitativa, recorrendo a cinco descritores da cor, a 16 descritores do aroma e a 12 descritores do sabor (Anexo 2). Os

providores pontuaram cada descritor, de acordo com uma escala estruturada (0 - sem percepção até 5 - percepção mais elevada). Para além disso, foi pedido aos provedores que efetuassem a apreciação do aroma, a apreciação do sabor e a apreciação geral, numa escala estruturada de 1 a 20.

Sessões de prova

As amostras das aguardentes de ensaio com seis meses de envelhecimento foram diluídas com água desmineralizada, para um teor alcoólico de 40 % v/v, para reduzir o efeito trigeminal resultante da elevada concentração de etanol.

Na sessão de prova foram apresentadas cinco amostras, distribuídas de acordo com um delineamento descrito por Williams (1949), de modo a eliminar o efeito da ordem e da posição das amostras. As amostras foram submetidas a uma “prova cega”, na sala de provas do INIAV - Dois Portos, em copos de prova para vinho (ISO 3591), num volume aproximado de 30 cm³, à temperatura ambiente e sob luz natural. Por forma a limitar os eventuais efeitos do estado de saciedade e da adaptação no olfato, as provas foram realizadas de manhã (cerca das 10 h 30 min), e os provedores efetuavam pequenos intervalos entre a apreciação das amostras.

Procedeu-se à avaliação da consistência dos provedores com base na introdução de amostras repetidas na mesma sessão e em sessões diferentes. Foi ainda avaliada a consistência do grupo de prova.

II.5. Métodos Estatísticos

Análise de variância

Para a determinação do efeito dos fatores sistema de envelhecimento e tempo de envelhecimento na composição físico-química da aguardente vínica, efetuou-se uma análise de variância dupla. Para a análise dos efeitos nas características organolépticas da aguardente foi realizada uma análise de variância simples. No tratamento de dados da prova organoléptica, realizou-se ainda uma análise de variância, para cada descritor, com o objetivo de verificar a concordância do painel de prova na utilização de cada descritor.

Sempre que foi observado efeito significativo (P=95%), muito significativo (P=99%) ou altamente significativo (P=99,9%) do fator, procedeu-se à comparação das médias pelo teste da mínima diferença significativa – LSD.

As análises foram realizadas através do programa Statistica v7.0.61.0 (Statsoft Inc., Tulsa, E.U.A.).

Correlação linear

Para realizar a análise de correlação – características cromáticas/cor sensorial; prova - recorreu-se ao programa Statgraphics – Statistical graphics system vs 5.0 (STSC Inc., Rocksville, EUA). A partir dos resultados obtidos foram calculados os coeficientes de correlação, de acordo com Brien *et al.* (1987) e Lima *et al.* (1988).

Regressão linear – Análise de variância

O estudo das curvas de calibração dos compostos analisados por HPLC foi efetuado por regressão linear em Excel 2000 (Microsoft, EUA). A decomposição das respectivas análises de variância, visando a determinação do erro puro e do erro de ajustamento - “lack-of-fit”, foi efetuada manualmente.

Análise multivariada

A análise multivariada implicou a utilização de um sistema de programas NTSYSpc vs 2.10q. Como método de agrupamento optou-se pelo UPGMA – *Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages*. Os resultados foram expressos na forma de fenogramas. Como método de ordenação, para representação gráfica dos objetos (OTUs) no espaço definido pelas variáveis analisadas, selecionou-se a PCA – *Principal Component Analysis*. Trata-se de uma análise de componentes principais, na qual se pretende obter uma imagem da distribuição dos pontos representativos de OTUs (aguardentes) no espaço a n dimensões (n representa o número de variáveis), reduzindo o número de dimensões iniciais. Os OTUs são projetados num novo sistema de eixos ortogonais, resultados de uma combinação linear das características utilizadas, devidamente ponderadas (Curvelo-Garcia *et al.*, 1987).

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1. Efeito do sistema de envelhecimento

III.1.1. Características gerais das aguardentes vínicas

Os resultados da análise de variância das características gerais das aguardentes produzidas nos sistemas de envelhecimento em estudo (Quadro III.1), demonstram que o sistema de envelhecimento exerce um efeito altamente significativo na acidez total e na acidez volátil, e um efeito muito significativo na acidez fixa, não se observando efeito significativo no pH.

Quadro III.1. Características gerais das aguardentes vínicas envelhecidas ao longo de seis meses de envelhecimento

	AT	AF	AV	pH
Efeito	***	**	***	Ns
Depósito	0,18 ± 0,04 a	0,04 ± 0,01 a	0,14 ± 0,03 a	4,86 ± 0,15
Vasilha	0,28 ± 0,09 b	0,05 ± 0,02 b	0,22 ± 0,08 b	4,79 ± 0,21

$\bar{x} \pm s$ = média ± desvio padrão de 16 valores; médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença muito significativa (**P=99%) ou altamente significativa (***P=99,9%); ns - diferença não significativa. AT – acidez total (g ácido acético.dm⁻³); AF - acidez fixa (g ácido acético.dm⁻³); AV - acidez volátil (g ácido acético.dm⁻³).

A acidez fixa, assim como a acidez volátil e, por consequência, a acidez total, apresentam teores mais elevados nas aguardentes envelhecidas em vasilha de madeira.

Como referem Belchior e Carvalho (1989), a acidez das aguardentes envelhecidas deve-se não só à acidez volátil do vinho, como também aos ácidos fenólicos extraídos da madeira durante o envelhecimento. Uma vez que foi utilizada a mesma aguardente branca nas vasilhas e nos depósitos, a acidez fixa mais elevada das aguardentes envelhecidas em vasilha indica que estas serão mais ricas em ácidos fenólicos do que as aguardentes envelhecidas nos depósitos de aço inoxidável, podendo ser resultado da variabilidade intra-específica da madeira (Mosedale, 1996; Canas, 2003; Prida *et al.*, 2006) ou do tratamento térmico da madeira utilizada nos diferentes sistemas (Martinez *et al.*, 2001; Koussissi *et al.*, 2009). Tendo em conta o tratamento térmico, teoricamente o nível de queima é o mesmo nas madeiras usadas nos dois sistemas, porém, dois aspetos devem ser considerados: na prática, o processamento térmico não é o mesmo e a diferente forma da madeira pode condicionar o efeito da queima, quer ao nível da estrutura quer da composição química (Fengel e Wegener, 1989).

Estudos realizados por Puech *et al.* (1992) demonstram que as lenhinas da madeira sofrem degradação, de que resultam ácidos fenólicos, que por sua vez sofrem nova

oxidação quando passam para a aguardente onde se forma o peróxido de hidrogénio. A formação deste oxidante forte funciona como intermediário e pode induzir a transformação (oxidação) do acetaldeído que originará o ácido acético, que é aquele que mais contribui para a acidez volátil da aguardente envelhecida (Fengel e Wegener, 1989). Para além desta via, o ácido acético é proveniente quer do destilado (Leauté, 1990), quer dos grupos acetil presentes nas xilanas (um grupo importante das hemiceluloses da madeira) em virtude da degradação das hemiceluloses por via do tratamento térmico (Hillis, 1984; Biermann *et al.*, 1987) e do próprio envelhecimento (Nishimura *et al.*, 1983).

Como referido anteriormente, tendo sido utilizado o mesmo destilado nos dois sistemas de envelhecimento, a diferença de acidez volátil existente entre eles deverá ser atribuída à contribuição da madeira e ao tratamento térmico que lhe foi aplicado. Os teores de acidez volátil são particularmente diferentes no início do envelhecimento, sabendo-se que são superiores em aguardentes envelhecidas em madeira de queima forte seguidas pelas de queima média e inferiores na queima ligeira (Belchior *et al.*, 2001). Estes resultados sugerem que o tratamento térmico das vasilhas, relativamente ao das aduelas colocadas em depósitos de aço inoxidável, terá favorecido uma degradação mais intensa das hemiceluloses e, a subsequente acumulação de ácido acético na madeira, que posteriormente terá sido transferido para a aguardente.

III.1.2. Características cromáticas e outros parâmetros analíticos das aguardentes vínicas

O efeito do sistema de envelhecimento no extrato seco, no índice de polifenóis totais e no oxigénio dissolvido das aguardentes envelhecidas é altamente significativo (Quadro III.2.). O mesmo se verifica para a luminosidade, sendo apenas significativo para a coordenada rectangular a^* . A absorvência a 470 nm, que segundo Martins e Van Boeckel (2003) é um indicador fiável relativamente ao teor de melanoidinas presente, é muito significativa. Não é observado um efeito significativo na coordenada rectangular b^* nem na saturação.

Os resultados obtidos para os parâmetros analíticos em questão (Quadro III.2.), demonstram que as aguardentes envelhecidas em vasilha possuem maior extrato seco e maior índice de polifenóis totais, mas menor intensidade de cor (inversamente proporcional à luminosidade), menor tonalidade vermelha (a^*) e menor tonalidade acastanhada (A 470). Portanto, a maior riqueza em termos de composição química destas aguardentes não corresponde a uma maior evolução do ponto de vista cromático (aspeto que adiante será aprofundado), contrariando os resultados obtidos em diversos ensaios realizados sobre o

envelhecimento da aguardente no sistema tradicional (Canas *et al.*, 2000a; Belchior *et al.*, 2001; Canas, 2003).

Quadro III.2. Parâmetros analíticos respeitantes à composição química e às características cromáticas das aguardentes vínicas ao longo de seis meses de envelhecimento.

	Efeito	Depósito	Vasilha
OD	***	19,53 ± 2,11 b	14,35 ± 2,77 a
ES	***	0,37 ± 0,24 a	0,53 ± 0,33 b
lpt	***	11,57 ± 6,29 a	15,13 ± 7,25 b
L*	***	91,91 ± 4,88 a	94,91 ± 3,87 b
C*	ns	29,43 ± 18,61	28,77 ± 15,03
a*	*	1,41 ± 1,26 b	0,73 ± 0,57 a
b*	ns	29,39 ± 18,57	28,76 ± 15,03
A 470	**	0,13 ± 0,09 b	0,10 ± 0,07 a

x ± s = média ± desvio padrão de 16 valores; médias seguidas de letras diferentes na linha indicam diferença significativa (*P=95%), muito significativa (**P=99%) ou altamente significativa (***P=99,9%); ns - diferença não significativa. OD - oxigénio dissolvido (mg.dm⁻³); ES - extrato seco (g.dm⁻³); lpt - índice de polifenóis totais; L* - luminosidade; C* - saturação; a* e b* coordenadas rectangulares; A 470 – absorvência a 470 nm.

Durante o envelhecimento a aguardente enriquece-se em substâncias extraíveis da madeira, que constituem o extrato seco. A natureza dos compostos depende não só da madeira, mas também do tratamento térmico a que foi sujeita (Lafon, 1971; Câmpeanu *et al.*, 1992). Uma vez que o tratamento térmico da madeira usada nos dois sistemas de envelhecimento em estudo é diferente, tal como referido anteriormente, os resultados obtidos sugerem que o tratamento térmico respeitante às vasilhas permitiu maior extração dos compostos comparativamente com as aduelas utilizadas para o envelhecimento da aguardente vínica nos depósitos, reflectindo-se no extrato seco das aguardentes correspondentes.

No referente ao índice de polifenóis totais, como o destilado não possui compostos fenólicos (Canas, 2003), a diferença encontrada deverá ser devida à influência da forma em que a madeira se encontra nos dois sistemas em estudo. O maior índice de polifenóis totais das aguardentes envelhecidas em vasilha poderá ser resultante da maior extração/difusão dos compostos fenólicos. Com efeito, de acordo com Belchior e San-Romão (1982), a extração dos compostos da madeira envolve já alguma oxidação, pelo que o menor teor de oxigénio dissolvido (correspondente a um maior teor consumido) e o maior teor de compostos fenólicos detetados nas aguardentes envelhecidas em vasilha parecem estar relacionados.

Por outro lado, a explicação apresentada para justificar a diferença de extrato seco entre aguardentes com base no tratamento térmico, revela ser também válida para fundamentar a diferença do índice de polifenóis totais entre aguardentes envelhecidas nos dois sistemas.

Importa referir que os valores de extrato seco e de índice de polifenóis totais deste ensaio apresentam uma correlação elevada ($r = 0,98$), evidenciando uma forte associação entre estes parâmetros analíticos - Anexo 3. Este resultado é concordante com o obtido por Canas *et al.* (2009b) num ensaio piloto recorrendo às mesmas madeiras, porém, discordante no sentido em que nesse ensaio foram observados valores superiores para ambos os parâmetros nas aguardentes envelhecidas nos depósitos com aduelas em comparação com as envelhecidas em vasilhas.

Quanto às características cromáticas, observa-se maior evolução da cor nas aguardentes envelhecidas em depósito, traduzida por uma maior intensidade de cor e tonalidade vermelha – Anexo 4. Apesar de não serem significativas, a saturação e a tonalidade amarela comportam-se da mesma forma. Verifica-se que a cor da aguardente envelhecida em depósito resulta da combinação vermelho-amarelo mais intensa, que estará na base da tonalidades dourado e topázio detectadas na prova organoléptica.

Belchior (1983) estabelece uma relação direta entre os polifenóis totais e a cor da aguardente envelhecida, e Bakker *et al.* (1986) demonstram que a luminosidade está inversamente relacionada com o teor de polifenóis totais num vinho licoroso. Resultados semelhantes, obtidos em aguardentes vínicas envelhecidas em vasilha de madeira (Canas *et al.*, 2000a; Belchior *et al.*, 2001; Canas, 2003), corroboraram estas observações. No presente trabalho, as correlações entre o índice de polifenóis totais e as características cromáticas, especificamente com a luminosidade ($r=-0,69$) e com a tonalidade a^* ($r=0,51$), vão ao encontro dos resultados obtidos pelos autores referidos. No entanto, quando são comparados o índice de polifenóis totais e a luminosidade nos sistemas de envelhecimento, verifica-se que, apesar das aguardentes envelhecidas em vasilha apresentarem um índice de polifenóis totais superior à das aguardentes envelhecidas em depósitos, as últimas possuem menor luminosidade. Este resultado pode provir da ocorrência de reações desconhecidas, uma vez que se utilizam duas madeiras de espécies diferentes em simultâneo, madeira sujeita a diferente processamento térmico, e/ou da presença de compostos não fenólicos que apresentem uma grande influência na cor, à semelhança do observado por Canas *et al.* (2009b) ao comparar aguardentes envelhecidas em vasilhas e aguardentes envelhecidas com dominós de madeira em depósito de aço inoxidável.

No tratamento térmico, a intensidade de queima e a dimensão das aduelas usadas nos depósitos, que podem ter favorecido a degradação dos compostos fenólicos formados nesta etapa (Sarni *et al.*, 1990; Rabier e Moutounet, 1991; Canas *et al.*, 2000c; Canas *et al.*, 2007), e provocado uma alteração mais intensa na estrutura da madeira (Hale *et al.*, 1999) podem ter contribuído para a menor concentração de compostos fenólicos nas aduelas. Para além disso, as reações de Maillard ocorrem durante a queima e são responsáveis pela formação de muitos compostos voláteis (Cutzach *et al.*, 1997) e não voláteis (Alañon *et al.*, 2010) na madeira. Estudos efetuados com soluções modelo (Hofmann, 1998) e em diferentes alimentos (Gokmen *et al.*, 2006), incluindo aguardentes (Avakians *et al.*, 1992), assinalaram que as reações de Maillard têm grande influência sobre as características da cor nos alimentos e bebidas. É conhecido que, entre a multiplicidade de compostos não voláteis resultantes das reações de Maillard, existem alguns cromóforos-chave (compostos com impacto elevado na cor) que originam as cores amareladas, avermelhadas, e acastanhadas (Hofmann *et al.*, 1998; Gokmen *et al.*, 2006). As melanoidinas pertencem a este grupo de cromóforos e estão intimamente relacionadas com a cor castanha nos alimentos (Gokmen *et al.*, 2006). As melanoidinas estão associadas ao tratamento térmico a que são sujeitos os alimentos e a partir de um determinado nível (temperatura e tempo), pode ocorrer a fragmentação de polímeros (Borrelli *et al.*, 2002).

A relação entre a composição química e a cor da aguardente vínica é diferente da observada nos vinhos tintos quando envelhecidos em diferentes sistemas (Del Álamo *et al.*, 2008; De Beer *et al.*, 2009). Este fato sugere que outros compostos não quantificados no índice de polifenóis totais e no extrato seco determinem a cor das aguardentes. Provavelmente, o acetaldeído, resultado da oxidação do etanol durante o envelhecimento (Reazin, 1981; Nishimura *et al.*, 1983), bem como alguns aldeídos fenólicos, como a vanilina (Es-Safi *et al.*, 2000), e aldeídos furânicos, como o 5-hidroximetilfurfural e o 5-metilfurfural (Es-Safi *et al.*, 2000), podem também intervir em reações de condensação entre compostos fenólicos presentes na aguardente, designadamente taninos, como tem sido observado no vinho tinto (Timberlake e Bridle, 1976, Es-Safi *et al.*, 2000).

Comparando a absorvência a 470 nm nos dois sistemas de envelhecimento, deduz-se que existe maior concentração de melanoidinas nas aguardentes envelhecidas em depósitos de aço inoxidável com aduelas do que nas envelhecidas nas vasilhas. Desta forma, e concordantemente com Canas *et al.* (2009b), os resultados do presente trabalho reforçam a hipótese colocada por estes autores, que consideram que as melanoidinas podem ser outro tipo de compostos corantes formados pelas reações de Maillard, que estando também presentes na madeira queimada, são passíveis de ser transferidos para a aguardente durante o envelhecimento. Nesta base, a maior intensidade de queima (Gokmen

et al., 2006) pode ter favorecido a formação e acumulação destes compostos nas aduelas e correspondente aguardente, cuja concentração não afetou consideravelmente o extrato seco mas contribuiu para a cor.

Por outro lado, o oxigénio constitui um elemento chave nas alterações químicas da aguardente vínica durante o envelhecimento (Avakiants, 1992; Mosedale e Puech, 1998), pelo que é analisado no sentido de obter mais informação sobre os fenómenos envolvidos na evolução da composição da aguardente durante este processo. Constata-se que as aguardentes envelhecidas em vasilhas apresentam um menor teor de oxigénio dissolvido do que as envelhecidas em depósitos de aço inoxidável com aduelas. Atendendo a que, nas vasilhas existe uma contínua e lenta difusão de oxigénio através do batoque e da madeira (Moutounet *et al.*, 1998; Kelly e Wollan, 2003), que não ocorre nos depósitos de aço inoxidável durante o envelhecimento, o menor teor de oxigénio dissolvido das aguardentes envelhecidas em vasilha parece indicar um elevado “consumo” nesta situação (Nevares *et al.*, 2008; Canas *et al.*, 2009a). Resultados idênticos foram obtidos por Canas *et al.* (2009b) em ensaio piloto. Portanto, apesar da razão superfície/volume ser igual e de terem sido utilizadas as mesmas espécies botânicas nos dois sistemas, as diferenças observadas nas aguardentes relacionam-se, possivelmente, com a taxa de extração dos componentes da madeira e das transformações subsequentes no meio líquido, como a alteração dos compostos não fenólicos e fenólicos (quantificados no extrato seco). Tal alteração encontra-se associada às reações que ocorrem durante o envelhecimento – oxidações, esterificações, reações de Maillard, polimerizações e policondensações -, sendo que Mosedale e Puech (1998) afirmam que a oxidação é a mais importante, envolvendo tanto os compostos do destilado como os provenientes da madeira. A oxidação, poderá ser específica de cada sistema de envelhecimento e ter contribuído para a diferenciação das aguardentes.

III.1.3. Compostos de massa molecular baixa das aguardentes vínicas

Na figura 3.1. são apresentados, a título exemplificativo, cromatogramas das aguardentes vínicas envelhecidas nos sistemas em estudo, em depósitos e em vasilhas, aos seis meses de envelhecimento, onde são observáveis diferenças: nos teores de ácido gálgico (1), de 5- hidroximetilfurfural (2), 5 – metilfurfural (6), coniferaldeído (10) e sinapaldeído (11), que nestes compostos verificam-se mais elevados nos cromatogramas respeitantes ao sistema de envelhecimento em vasilha e no teor de siringaldeído (9) que mostra-se mais elevado no cromatograma pertencente ao envelhecimento em depósito.

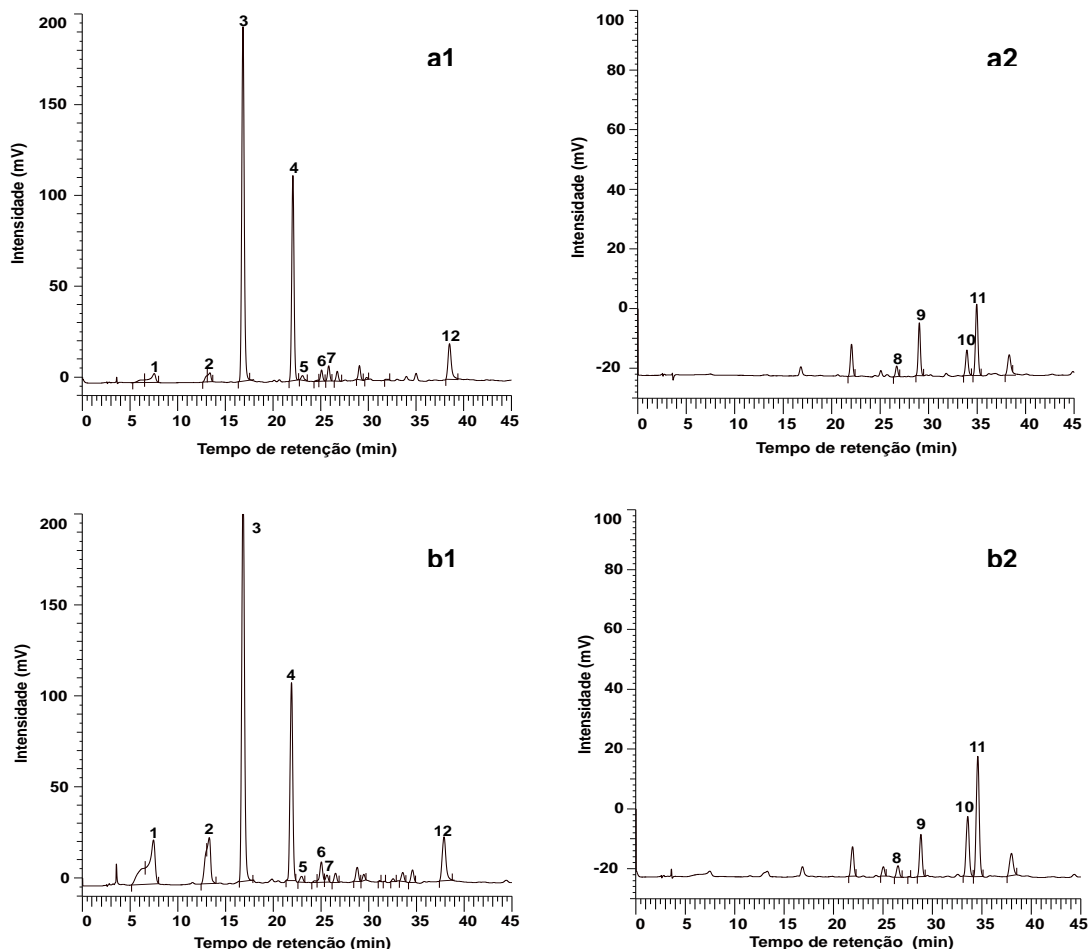


Figura 3.1. Cromatogramas de aguardentes vínicas envelhecidas em depósitos (a) e vasilhas (b), com detecção a 280 nm (1) e 320 nm (2), aos seis meses de envelhecimento: 1- gal; 2 – HMF; 3 – furf; 4 – 4- hidroxibenzaldeído; 5 – van; 6 – 5mfurf; 7- sg; 8 – vanil; 9 – sgald; 10 – cnald; 11 – snald; 12 – elag.

Os resultados da análise de variância (Quadro III.3.) demonstram a existência de um efeito altamente significativo no teor de 5-hidroximetilfurfural, ácido gálico, coniferaldeído e sinapaldeído; muito significativo no teor de ácido elágico e significativo para o furfural, o siringaldeído e o teor total de compostos analisados.

Apesar de ser observado efeito do sistema de envelhecimento nos teores de 5-metilfurfural e de ácido sirínico, o fato de se encontrarem abaixo dos limiares de quantificação respectivos, justifica a sua exclusão da análise de resultados.

Importa realçar que o total de compostos de massa molecular baixa é mais elevado nas aguardentes envelhecidas em vasilha. Considerando o período de seis meses de envelhecimento, as aguardentes produzidas nos dois sistemas de envelhecimento distinguem-se particularmente pelos teores de 5-hidroximetilfurfural, ácido gálico,

coniferaldeído e sinapaldeído, que são superiores nas aguardentes envelhecidas em vasilha.

Quadro III.3. Teores de compostos de massa molecular baixa das aguardentes vínicas ao longo de seis meses de envelhecimento (mg.dm⁻³).

	Efeito	Depósito	Vasilha
HMF	***	1,80 ± 1,09 a	9,42 ± 5,19 b
furf	*	29,26 ± 7,04 a	32,44 ± 7,33 b
5mfurf	-	nd	(0,08 ± 0,09)
gal	***	4,17 ± 3,55 a	21,74 ± 16,44 b
van	ns	(0,92 ± 0,83)	1,17±0,95
sg	***	(0,30 ± 0,28)	1,69 ± 0,68
elag	**	3,09 ± 1,96 a	3,97 ± 2,45 b
vanil	ns	0,83 ± 0,57	1,01 ± 0,79
sgald	*	3,31 ± 2,22 b	2,85 ± 1,91 a
cfald	***	3,62 ± 2,36 a	6,81 ± 3,60 b
snald	***	5,57 ± 3,66 a	10,51 ± 5,59 b
Total	*	52,92 ± 5,24 a	91,69 ± 8,30 b

x ± s = média ± desvio padrão de 16 valores; médias seguidas de letras diferentes na linha indicam diferença significativa (*P=95%), muito significativa (**P=99%) ou altamente significativa (***P=99,9%); ns - diferença não significativa; nd = não detetados; () indica valor < limite de quantificação; – indica efeito não determinado pelo fato da concentração se encontrar abaixo do limiar de quantificação.

Comparativamente com as aguardentes envelhecidas em vasilha, os teores de aldeídos furânicos encontrados nas envelhecidas em depósitos são, no seu conjunto, inferiores, apesar dos resultados não serem significativos (Figura 3.2.). O elevado desvio padrão, indicador da variabilidade dentro de cada modalidade de envelhecimento, deverá em parte ser responsável pela inexistência de diferenciação significativa.

A distinção de aguardentes em função do sistema relativamente ao hidroximetilfurfural é de destacar, sendo este muito superior nas vasilhas. O furfural é o composto quantitativamente mais importante das aguardentes envelhecidas quer em depósito quer em vasilha, portanto a sua concentração destaca-se logo nos primeiros meses de envelhecimento (Canas *et al.*, 2004; Patricio *et al.*, 2005), não só porque se encontra no destilado (Onishi *et al.*, 1977; Jeuring e Kupperts, 1980; Canas *et al.*, 2004; Caldeira *et al.*, 2010), como também por ser o composto com maior taxa de difusão na aguardente (Canas *et al.*, 2004). Por outro lado, o furfural resulta da degradação das hemiceluloses da madeira

por ação da queima. Estes polímeros são os que apresentam menor resistência térmica (Fengel e Wegener, 1989) e daí serem preferencialmente degradados, contribuindo para que o furfural seja o principal aldeído furânico da madeira queimada (Biermann *et al.*, 1987; Rabier e Moutounet, 1991; Chatonnet, 1995; Canas *et al.*, 2007) e das aguardentes correspondentes (Canas, 2003).

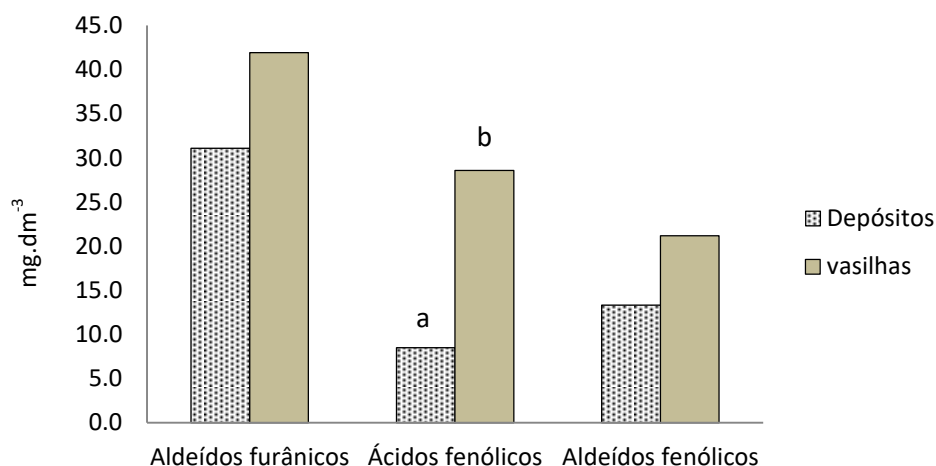


Figura 3.2. Teores totais de aldeídos furânicos, ácidos fenólicos e aldeídos fenólicos das aguardentes envelhecidas nos dois sistemas ao longo de seis meses. Letras diferentes indicam diferença significativa (P=95%).

O teor total de ácidos fenólicos é significativamente superior nas aguardentes envelhecidas em vasilha (Figura 3.2.). Verifica-se que nos ácidos fenólicos e em ambos os sistemas, destaca-se a presença de ácido gálgico e de ácido elágico, marcadores da madeira de castanheiro e de carvalho, respetivamente (Canas, 2003). Relativamente ao ácido gálgico, observa-se uma diferença substancial, induzida pelo sistema (Quadro III.3.), sendo o teor deste composto superior nas aguardentes envelhecidas em vasilha. O ácido gálgico é termossensível (Rabier e Moutounet, 1991; Canas *et al.*, 2000a; Canas *et al.*, 2007), tendendo normalmente a diminuir a partir da queima média. É sabido que o ponto de fusão deste ácido é de 249,9 °C, que é semelhante à temperatura de queima a que a madeira de ambos os sistemas de envelhecimento em estudo foram submetidas (Anexo 5). Portanto, pode constatar-se que a madeira das vasilhas foi alvo maior acumulação do que de degradação de compostos. Por outro lado, apesar da relação superfície/volume ser a mesma em ambos os sistemas, a diferença observada pode estar associada à degradação mais intensa deste composto durante a queima das aduelas em virtude da menor espessura das mesmas.

Chatonnet (1995) demonstra que com a degradação dos elagitaninos forma-se ácido elágico, o qual apresenta um ponto de fusão próximo de 450 °C e portanto acumula-se na madeira, uma vez que não é atingida esta temperatura durante o tratamento térmico (Anexo 5).

Do ponto de vista global, observa-se que a concentração de aldeídos fenólicos apresenta alguma variabilidade nas aguardentes envelhecidas em ambos os sistemas, condicionando o efeito estatístico, apesar de se observar maior concentração de aldeídos fenólicos nas aguardentes envelhecidas em vasilhas (Figura 3.2.). Analisando o Quadro III.3. constata-se que, individualmente, os aldeídos fenólicos encontram-se em maior concentração nas aguardentes envelhecidas em vasilha do que nas envelhecidas em depósito, exceptuando o siringaldeído. Este fato pode estar relacionado com o tipo de reações químicas que ocorrem em cada sistema e com a probabilidade de se desencadarem de forma diferente (Canas *et al.*, 2013b). Contudo, a vanilina e o siringaldeído apresentam um complexo perfil de extração, podendo resultar de: i) queima muito intensa; ii) processo oxidativo mais acentuado ao nível da madeira e/ou de aguardente, segundo a hipótese colocada de Puech (1984).

Em termos gerais verifica-se que, ao fim de seis meses de envelhecimento, período mínimo indicado pela legislação europeia para o envelhecimento da aguardente vínica (ver I.2.3.), o sistema alternativo constituído por depósitos de aço inoxidável com aduelas em contacto com a aguardente vínica não permitiu a aquisição das características físico-químicas alcançadas pela mesma aguardente envelhecida em sistema tradicional. Já em termos cromáticos, foi conseguida uma maior evolução das aguardentes envelhecidas no sistema alternativo relativamente ao tradicional, o que levanta as questões já mencionadas no que respeita à relação entre a composição físico-química e os parâmetros que caracterizam a cor da aguardente vínica envelhecida nos diferentes sistemas.

III.1.4. Ensaio baseado no método do “Extrato seco”

A seleção da metodologia deste ensaio teve por base os seguintes aspetos:

- Atendendo a que: i) as aguardentes envelhecidas em vasilha apresentam maior extrato seco e índice de polifenóis totais, mas menor evolução do ponto de vista cromático que as aguardentes envelhecidas em depósito; ii) de acordo com o “Recueil des methodes internationales d’analyse des boissons spiritueuses, des alcools et de la faction aromatique des boissons” (OIV, 2014), o “extrato seco total” é o conjunto de todas as substâncias que, nas condições do método utilizado (definida por forma a que as substâncias da aguardente sejam sujeitas a uma alteração mínima), não sofram volatilização;

- Então, a comparação de uma aliquota de aguardente controlo (C) com uma aliquota da mesma aguardente submetida ao método do extrato seco (ES), baseada na análise do índice de polifenóis totais, das características cromáticas e dos teores de compostos de massa molecular baixa, poderá fornecer indicações relevantes sobre a eventual volatilização dos compostos da aguardente (ver II.3.4.) durante a aplicação do método e as suas repercussões no índice de polifenóis totais e nos parâmetros da cor da aguardente.

A sujeição das aguardentes a temperaturas de 100 °C (condições do método), não se mostrou significativa para a maioria dos compostos extraíveis, embora seja registada uma diminuição altamente significativa nas aguardentes envelhecidas nos dois sistemas para o furfural e um aumento significativo do ácido sirínico nas aguardentes envelhecidas em depósito e uma diminuição altamente significativa nas aguardentes envelhecidas em vasilha (Quadro III.4).

Na observação destes resultados constata-se que o índice de polifenóis totais é coerente com os resultados da análise efetuada anteriormente (ver III.1.2.), sendo mais elevado nas aguardentes envelhecidas em vasilha. Após aplicação do método do extrato seco, pode confirmar-se que o índice de polifenóis totais diminuiu – em que são quantificados compostos fenólicos e derivados furânicos (Canas *et al.*, 2013b). Esta variação, pode resultar da evaporação de compostos fenólicos voláteis e de derivados furânicos.

Relativamente às características cromáticas, este ensaio corrobora o que foi referido anteriormente (ver III.1.2.). A intensidade da cor (inverso da luminosidade) aumenta após aplicação do método de extrato seco nas aguardentes de ambos os sistemas, pelo que é possível inferir uma maior contribuição dos compostos de natureza não fenólica para a intensidade da cor. Sabe-se que a interação das coordenadas a^* e b^* , quando os seus valores são elevados, tende a originar a tonalidade topázio. Neste ensaio verifica-se que a^* e b^* não sofrem alterações significativas. Porém a coordenada a^* aumenta após aplicação do método, o que sugere a formação de pigmentos vermelhos que, conjuntamente com as melanoidinas (aumento de A_{470}), contribuem para a evolução da tonalidade das aguardentes no sentido do topázio. Portanto, o efeito associado pode ser também resultado da formação de pigmentos não fenólicos por ação da temperatura e eventualmente, por oxidação, dando suporte à hipótese de que a cor da aguardente envelhecida em diferentes sistemas está relacionada com compostos de natureza não fenólica e/ou volátil.

Os aldeídos furânicos (Quadro III.4.) apresentam diferenças significativas entre sistemas, verificando-se a diminuição dos teores de todos estes compostos após aplicação

do método do extrato seco. Este fato é muito representativo no furfural, que praticamente deixa de ser passível de quantificação.

Atendendo a que os aldeídos furânicos são quantificados no extrato seco mas também no índice de polifenóis totais (Canas *et al.*, 2013a,b), a alteração detetada implica que a concentração de compostos voláteis na forma livre (mais suscetíveis de sofrerem evaporação, oxidação e/ou o envolvimento noutras reações químicas) diminua e, portanto, leve à diminuição da sua contribuição para o índice de polifenóis totais.

Quadro III.4. Valores médios dos parâmetros analíticos das amostras antes e após aplicação do método do “Extrato seco”.

Sistema		Depósitos			Vasilhas			
Ensaio	Efeito	C	ES	ES-C (%)	Efeito	C	ES	ES-C (%)
lpt	ns	16,78	12,27	-27	ns	23,70	17,01	-28
L*	ns	90,28	84,44	-6	ns	89,83	85,07	-5
C*	ns	47,56	47,65	0	ns	45,00	46,29	3
a*	ns	2,06	3,51	70	ns	1,18	2,72	130
b*	ns	47,51	47,51	0	ns	44,98	46,20	3
A470	ns	0,19	0,24	26	ns	0,18	0,23	24
HMF	ns	2,79	2,17	-22	ns	15,08	12,79	-15
furf	***	35,20 b	(0,06) a	-99,8	***	41,67 b	0,24 a	-99
5mfurf	ns	(0,09)	nd	-55	*	(0,18) b	nd a	-68
gal	ns	7,68	7,42	-3	ns	41,96	43,16	3
van	ns	1,57	1,85	18	ns	2,46	1,63	-34
sg	*	0,53 a	1,13 b	113	***	2,48 b	0,06 a	-97
elag	ns	4,46	4,27	-4	ns	6,71	5,60	-17
vanil	ns	1,35	1,02	-24	ns	1,99	1,36	-32
sgald	ns	5,27	5,10	-3	ns	5,05	4,50	-11
cfald	ns	2,07	1,96	-5	ns	5,75	5,39	-6
snald	ns	8,73	9,10	4	ns	17,23	17,13	-1

x (média) de 16 valores; médias seguidas de letras diferentes na linha indicam diferença significativa (*P=95%), altamente significativa (***P=99,9%); ns - diferença não significativa; nd = não detetados; () indica valor < limite de quantificação. C = Controlo (aguardente antes da aplicação do método de extrato seco); ES = Solução hidroalcoólica usada na ressuspensão do extrato seco após a aplicação do método.

Nos ácidos fenólicos é relevante a diminuição dos teores de ácido vanílico e ácido sirínico que parece contribuir para a diminuição do índice de polifenóis totais das mesmas e pode ser justificada pela oxidação e/ou degradação destes ácidos no decorrer do ensaio. A diferença de comportamento associada aos sistemas após aplicação do método do extrato seco relativamente ao comportamento destes ácidos nas soluções hidroalcoólicas correspondentes às aguardentes envelhecidas em depósito e em vasilha sugere, mais uma

vez que, as reações químicas deverão ser diferentes nos sistemas de envelhecimento em análise.

O ácido elágico diminui em ambos os casos, embora de forma mais acentuada nas aguardentes envelhecidas em vasilha. Estas diferenças de comportamento sugerem que os fenómenos que regem a formação de compostos são distintos nos diferentes sistemas ou que essa diferença de comportamento pode ser intrínseca ao tratamento térmico sofrido pelas aduelas e pelas vasilhas. O fato do ácido elágico ser solúvel na aguardente e de não ser totalmente solúvel numa solução hidroalcoólica requer atenção, uma vez que pode existir um efeito colateral da ressuspensão do extrato seco nas determinações analíticas realizadas subsequentemente (Canas, comunicação pessoal).

A concentração de aldeídos fenólicos diminui da aguardente controlo para a solução hidroalcoólica após aplicação do método do extrato seco em ambos os sistemas, exceptuando ao sinapaldeído. A diminuição da concentração da vanilina deve resultar essencialmente da evaporação, dado tratar-se de um aldeído fenólico volátil, bem como de fenómenos de degradação, onde se inclui a oxidação, que também afectam a diminuição de concentração de siringaldeído e coniferaldeído.

Concluindo, observa-se que no ensaio de extrato seco ocorre uma alteração significativa da composição fenólica e furânica, em que a diminuição de alguns destes compostos e a existência de outros compostos de natureza não fenólica contribui para a cor das aguardentes envelhecidas, podendo explicar a aparente incoerência entre os resultados obtidos no estudo da composição química e das características cromáticas das aguardentes envelhecidas em diferentes sistemas, bem como a diferença relativamente às correlações encontradas no envelhecimento tradicional (Canas, 2003).

III.1.5. Características organolépticas das aguardentes vínicas

A prova organoléptica das aguardentes vínicas deste ensaio envolveu, *a priori*, a avaliação e a caracterização do grupo de prova.

III.1.5.1 Avaliação e caracterização do grupo de prova

Procedeu-se à avaliação da consistência de cada provador, e subsequentemente, à avaliação do grupo de prova, no que se refere à utilização dos descritores (ver II.4.) - Anexo 6.

Os cálculos efetuados para avaliação do painel de provadores através da apresentação de amostras repetidas da mesma aguardente, em “prova cega”, permitiu

encontrar resultados significativos quanto à consistência de resposta entre eles. O mesmo foi verificado com a utilização dos descritores de cor, aroma, sabor e com as apreciações gerais – de aroma, de sabor e global – concluindo-se que o grupo estabelece relações concordantes entre si, mostrando-se significativas e fiáveis.

III.1.5.2. Efeito do sistema de envelhecimento nas características organolépticas das aguardentes vínicas

A prova organoléptica realizada aos seis meses de envelhecimento justifica-se na medida em que, este período corresponde ao tempo mínimo de envelhecimento da aguardente vínica (ver I.2.3.).

A prova organoléptica associada a este estudo não revelou efeito significativo do sistema de envelhecimento nas características das aguardentes vínicas, excepto para a baunilha.

Pela análise da Figura 3.3., verifica-se que a cor percebida pelos provadores para as aguardentes envelhecidas nos dois sistemas de envelhecimento é a na tonalidade dourado, embora a tonalidade topázio tenha alguma expressão - o que é indicativo do envelhecimento em madeira (Belchior *et al.*, 2001; Canas *et al.*, 2000a; Canas, 2003; Caldeira *et al.*, 2013). Denota-se que estas tonalidades são mais intensas nas aguardentes envelhecidas em depósito. Já as aguardentes envelhecidas em vasilha apresentam valores mais elevados nas tonalidades citrino e palha.

Comparando estes resultados com os obtidos para as características cromáticas determinadas através do método CIELab (ver III.1.2.), constata-se que existe coerência entre eles, na medida em que as correlações (Quadro III.5.) evidenciam que a luminosidade se relaciona positivamente com as tonalidades citrino e palha, o que encontra correspondência com a maior luminosidade das aguardentes envelhecidas em vasilha, e negativamente com o dourado e o topázio que, por sua vez são tonalidades mais evidentes nas aguardentes envelhecidas em depósito, às quais corresponde menor luminosidade (Quadro III.2.). De forma oposta, a saturação correlaciona-se negativamente com as tonalidades citrino e palha e positivamente com o dourado e o topázio, observando-se efetivamente tonalidades mais carregadas nas aguardentes envelhecidas em depósito (Quadro III.2.).

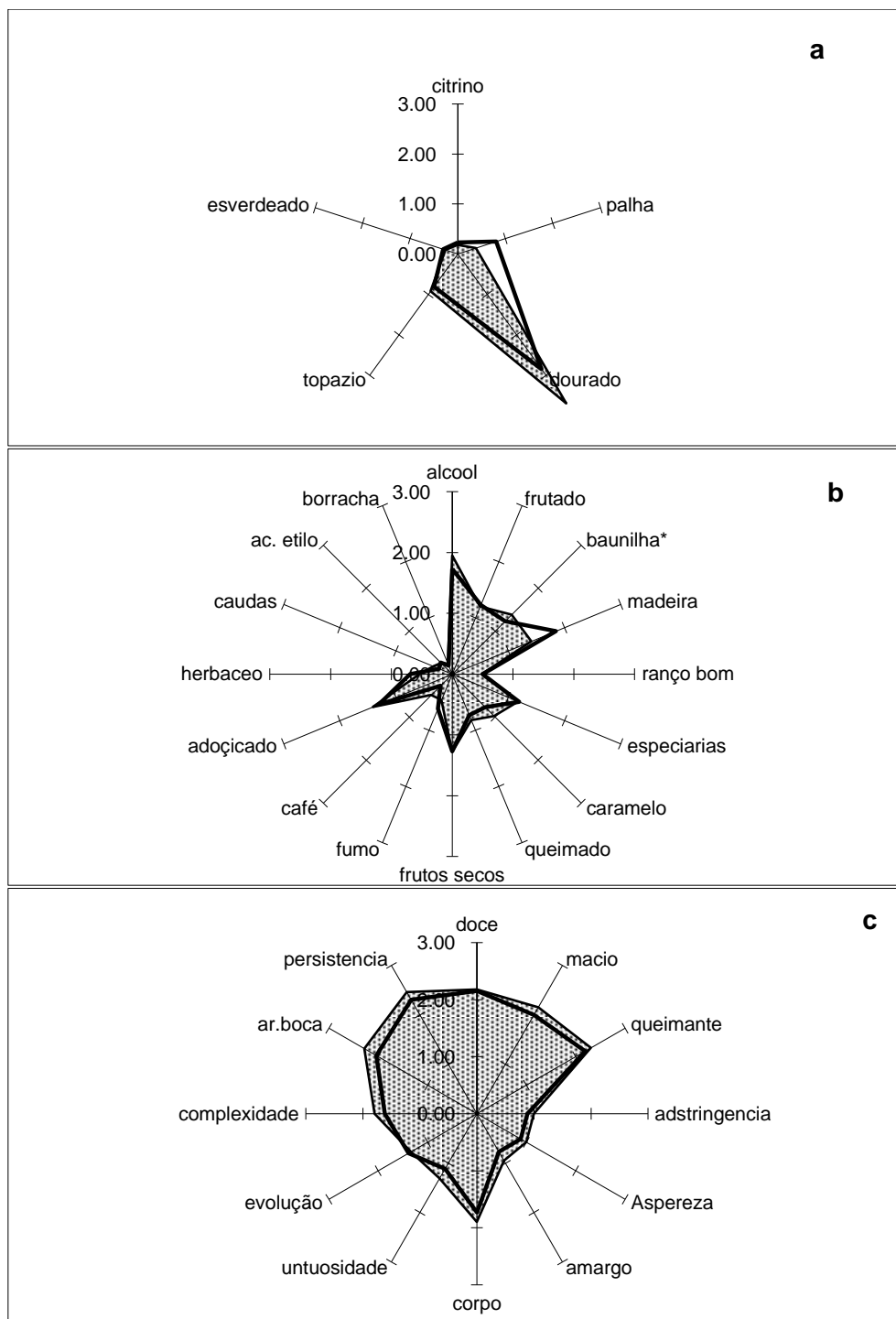


Figura 3.3. Perfil organoléptico médio das aguardentes vínicas com seis meses de envelhecimento nos diferentes sistemas (valores médios fornecidos pela análise de variância); ▨ Depósitos; ▣ Vasilhas. a – cor; b – aroma; c – sabor; *indica efeito significativo ($P=95\%$).

As coordenadas a^* e b^* e a absorvência a 470 nm apresentam uma correlação análoga à registada para a saturação. Existe uma correlação negativa com o citrino e com o palha, mais evidente nas aguardentes envelhecidas em vasilha, a par de menores valores

das coordenadas a^* e b^* e de A 470, e positiva para o dourado e para o topázio, cujas coordenadas a^* e b^* e A 470 são mais elevadas nas aguardentes envelhecidas em depósito (Quadro III.2.).

Quadro III.5. Correlações entre as características cromáticas e a cor observada na prova organoléptica das aguardentes com seis meses de envelhecimento.

	L^*	C^*	a^*	b^*	A 470
citrino	0.90	-0.67	-0.84	-0.66	-0.82
palha	0.66	-0.96	-0.83	-0.96	-0.85
dourado	-0.91	0.93	0.95	0.93	0.96
topázio	-0.72	0.93	0.87	0.93	0.87

Em termos de aroma (Figura 3.3.), o descritor baunilha é melhor pontuado nas aguardentes envelhecidas em depósito. Comparando este resultado com o da análise química (Quadro III.3.), observa-se incoerência entre eles, uma vez que existe maior concentração da baunilha nas aguardentes envelhecidas em vasilha, embora não seja significativa. O aroma associado à baunilha apresenta uma elevada importância dado o seu baixo limiar de deteção olfativo (Maga, 1985), logo esta aparente incongruência pode provir de dois aspetos: sinergia entre compostos, uma vez que não está comprovada a relação linear entre a concentração de vanilina e o aroma a baunilha (Caldeira *et al.*, 2008); o fato do nariz humano e o mecanismo da olfação constituírem uma “máquina” de tal forma complexa cuja eficácia de deteção de aromas supera qualquer equipamento de análise química (Jim *et al.*, 2010).

Quanto a outros descritores de aroma verifica-se uma diferença assinalável, mas não significativa, nos descritores de madeira e de álcool sendo o primeiro melhor pontuado nas aguardentes envelhecidas em vasilha e o segundo com pontuação mais evidente nas aguardentes envelhecidas em depósito. A inexistência de diferença significativa entre as aguardentes produzidas nos dois sistemas nos primeiros seis meses de envelhecimento, contrariando o que se observa na evolução da composição química ao longo do tempo do ensaio, poderá residir no fato de os aromas e seus precursores, cujo desenvolvimento se encontra numa fase inicial, não se distinguirem organolépticamente. Resultados obtidos por Amado (2014) indicam que existe uma diferença entre os sistemas de envelhecimento vasilhas e depósitos para tempos superiores a 12 meses.

Relativamente aos descritores de sabor as aguardentes envelhecidas em depósito foram melhor pontuadas em todos os descritores excetuando na evolução. As diferenças não significativas entre as aguardentes vínicas envelhecidas nos sistemas de

envelhecimento em estudo para os descritores de sabor estão em concordância com os resultados obtidos por Amado (2014).

No respeitante às apreciações do aroma, sabor e global, não se observam diferenças significativas causadas pelo sistema de envelhecimento, situando-se a sua classificação entre 12 e 12,7 valores (Figura 3.4.). Contudo, verifica-se que as apreciações tendem a favorecer as aguardentes envelhecidas em depósito no sabor e no âmbito global.

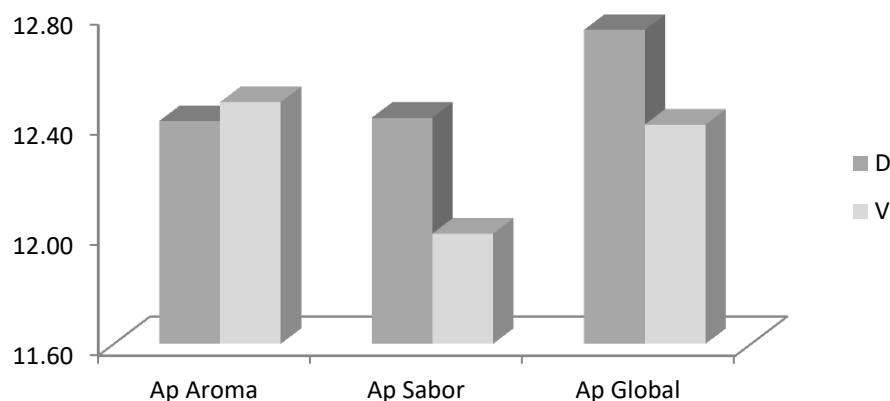


Figura 3.4. Apreciação do aroma, sabor e global das aguardentes vnicas com seis meses de envelhecimento nos dois sistemas; D – depósitos; V – vasilhas.

Nesta fase do envelhecimento, não existem diferenças significativas nas apreciações de aroma, sabor e global.

III.2. Efeito do tempo de envelhecimento

O tempo de envelhecimento condiciona a evolução de todas as características estudadas de forma altamente significativa, exceptuando a coordenada rectangular a^* , em que exerce um efeito muito significativo – Figuras 3.5., 3.6. e 3.7..

III.2.1. Cinéticas das características gerais das aguardentes vnicas ao longo de seis meses de envelhecimento

De acordo com a análise de variância, a acidez total aumenta ao longo do tempo, concomitantemente com o aumento da acidez volátil e da acidez fixa. No entanto, à semelhança da acidez volátil, a acidez total não varia significativamente entre os 90 dias e os 180 dias de envelhecimento.

O aumento da acidez fixa resulta do aumento do teor em compostos fenólicos extraídos da madeira nas aguardentes envelhecidas (Belchior *et al.*, 2001). Já o aumento da

acidez volátil deve-se provavelmente ao enriquecimento em ácido acético, por reações de oxidação que ocorrem ao longo do tempo (Belchior *et al.*, 2001).

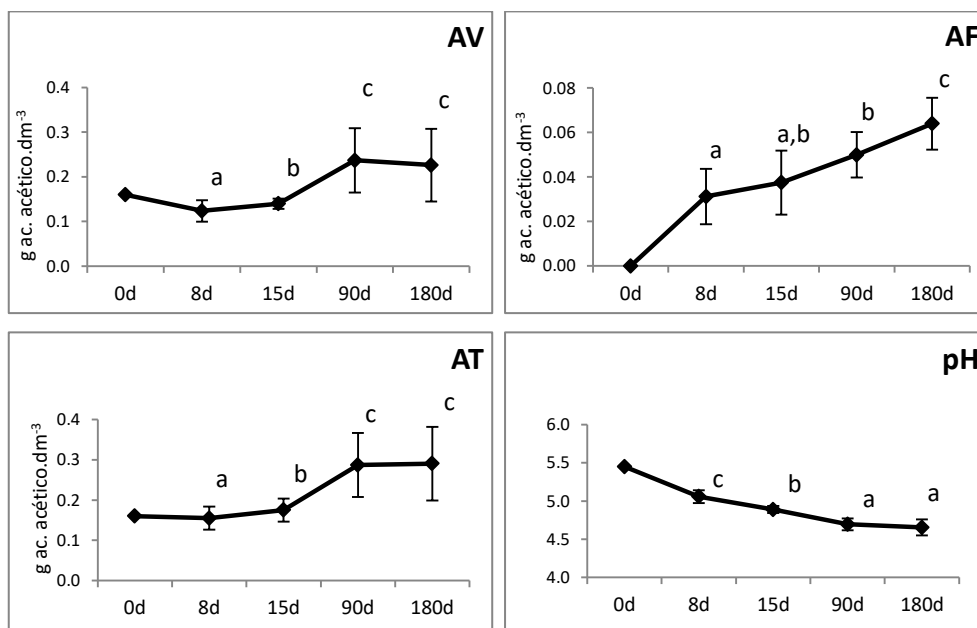


Figura 3.5. Evolução dos valores médios das características gerais das aguardentes vínicas ao longo do tempo de envelhecimento. Letras diferentes indicam diferença altamente significativa (P=99,9%). AV - acidez volátil; AF - acidez fixa; AT - acidez total; pH.

O pH diminui gradualmente ao longo do período de envelhecimento estudado, o que é coerente com o aumento da acidez total.

III.2.2. Cinéticas das características cromáticas e de outros parâmetros analíticos das aguardentes vínicas ao longo dos seis meses de envelhecimento

A análise da Figura 3.6. evidencia que o extrato seco das aguardentes sofre um aumento gradual, mas pouco acentuado nos primeiros 15 dias de envelhecimento, seguido de uma evolução marcada entre os 15 e os 90 dias. A cinética exibida vai ao encontro das conclusões reiteradas por Belchior *et al.* (2001), Canas *et al.* (2002) e Patricio *et al.* (2005), no sentido em que a maior extração dos compostos da madeira pela aguardente vínica envelhecida em vasilha ocorre no primeiro mês e meio de envelhecimento. O índice de polifenóis totais da aguardente evolui de forma semelhante mas com acréscimos mais acentuados, já que o seu aumento é maior até aos 90 dias, não se verificando uma variação significativa entre os 90 e os 180 dias.

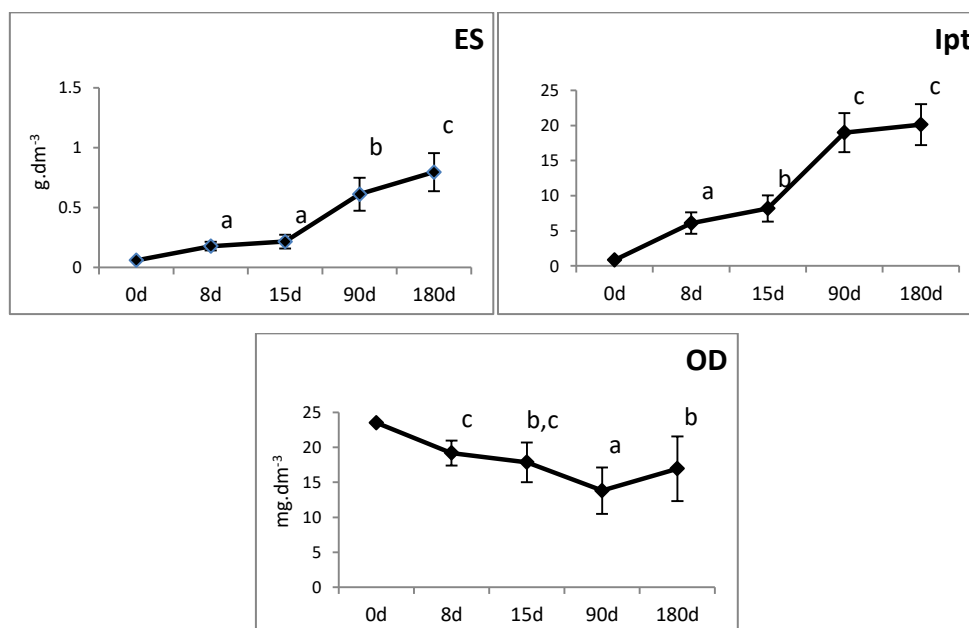


Figura 3.6. Evolução dos valores médios de extrato seco (ES), índice de polifenóis totais (Ipt) e oxigénio dissolvido (OD) das aguardentes ao longo dos seis meses de envelhecimento. Letras diferentes indicam diferença altamente significativa (P=99,9%).

O oxigénio dissolvido diminui até aos 90 dias, seguindo-se um aumento até aos 180 dias de envelhecimento. Resultados semelhantes são referidos por Canas *et al.* (2009a) relativamente a um ensaio piloto onde foi comparado o efeito da oxigenação e da forma da madeira em diferentes sistemas de envelhecimento. Este comportamento, indicador de um elevado “consumo” de oxigénio no início do envelhecimento pode ser resultado das várias reações em que o oxigénio participa. Aos 180 dias verifica-se um novo aumento da disponibilidade de oxigénio dissolvido, que pode ser resultante de um abrandamento da extração como demonstram as cinéticas da AV, AT, Ipt e da maior dos compostos de massa molecular baixa.

Relativamente à evolução da cor (Figura 3.7.), observa-se um aumento contínuo da saturação, e um decréscimo da luminosidade, sendo desta forma concordante com o descrito por Canas *et al.* (2009a).

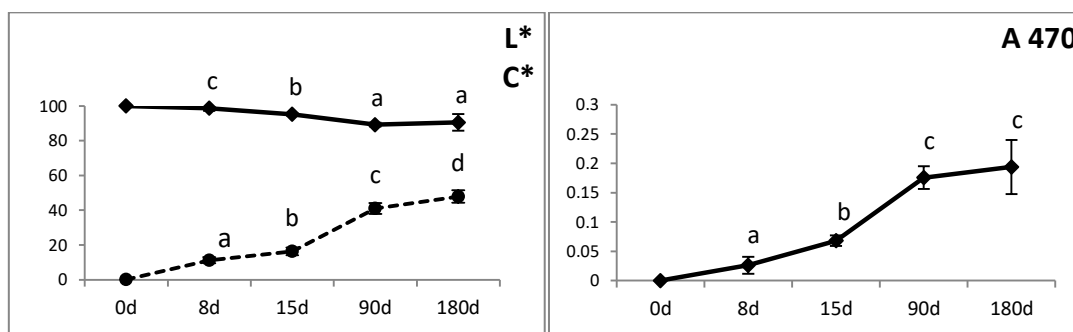


Figura 3.7. Evolução das características cromáticas médias das aguardentes envelhecidas nos primeiros seis meses de envelhecimento: L* – luminosidade ◆◆◆, C* - saturação ●-●-● A 470 - absorvência a 470 nm. Letras diferentes indicam diferença altamente significativa (P=99,9%).

Inferre-se que estas cinéticas possam advir do aumento de compostos fenólicos e não fenólicos extraídos da madeira pela aguardente, e que encontram uma correlação muito acentuada com o teor de melanoidinas. Como se pode verificar na Figura 3.7., o valor da absorvência a 470 nm sofre um incremento gradual e significativo até aos 90 dias de envelhecimento. Dos 90 dias para os 180 dias o aumento não é significativo, o que pode ser parcialmente explicado pelo elevado desvio padrão associado à última amostragem. A maior amplitude do desvio padrão nesta fase do envelhecimento reflete possivelmente a variabilidade intra-específica da madeira utilizada e a forma da madeira, assim como da variabilidade inerente ao tratamento térmico a que as madeiras foram sujeitas.

Avaliando a evolução das coordenadas rectangulares – Figura 3.8., verifica-se que a aguardente branca apresenta uma tonalidade esverdeada (correspondente a um valor negativo de a^*), enquanto as aguardentes envelhecidas exibem tonalidades resultantes da conjugação vermelho (coordenada a^* positiva) e amarelo (coordenada b^* positiva). Nos primeiros 15 dias de envelhecimento, a evolução das tonalidades vermelha (a^*) e amarela (b^*) revela-se superior nas aguardentes envelhecidas em vasilha. Contudo, a partir dos 90 dias, enquanto as aguardentes envelhecidas em depósito exibem um aumento progressivo de ambas as tonalidades, o mesmo não se verifica nas aguardentes envelhecidas em vasilha. Estas últimas, aos 90 dias, tornam-se tendencialmente mais amarelas, uma vez que a coordenada b^* aumenta e a coordenada a^* varia pouco.

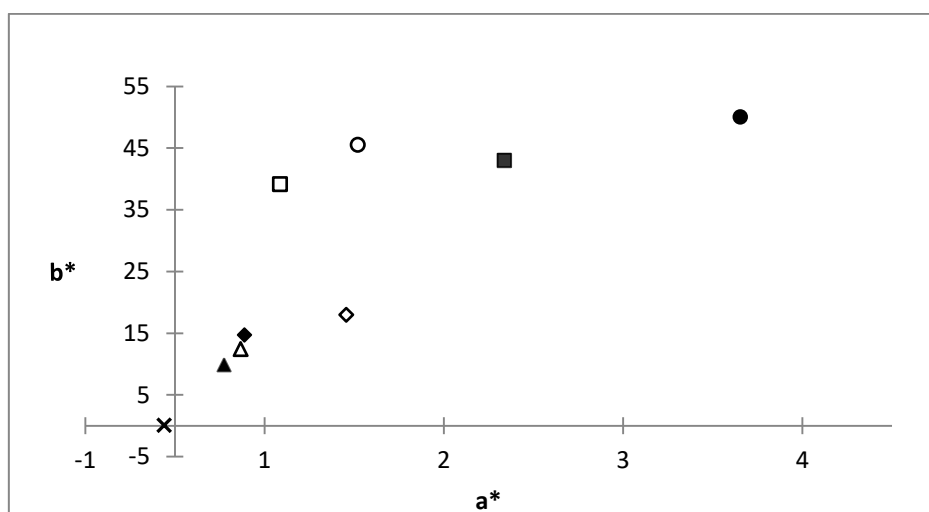


Figura 3.8. Projeção dos valores médios das aguardentes vínicas ao longo dos primeiros seis meses de envelhecimento, no espaço definido pelas coordenadas rectangulares a^* e b^* : \times 0 dias (aguardente branca); \blacktriangle 8 dias; \blacklozenge 15 dias; \blacksquare 90 dias; \bullet 180 dias; Depósitos – símbolo com preenchimento; Vasilhas símbolo sem preenchimento.

III.2.3. Cinéticas dos compostos de massa molecular baixa das aguardentes vínicas ao longo de seis meses de envelhecimento

São evidentes as alterações na composição furânica e fenólica que surgem ao longo do tempo, traduzidas pelo aumento contínuo dos teores de todos os compostos de massa molecular baixa das aguardentes vínicas em estudo (Figura 3.9.).

Relativamente aos aldeídos furânicos, o teor de HFM e, sobretudo de 5-metilfurfural, aumentam de forma lenta na fase inicial do envelhecimento (primeiros 15 dias), ao contrário do teor de furfural, cujo acréscimo é significativo dos oito para os 15 dias. Quando se compara os primeiros 15 dias com os 90 dias, é notório que nos três aldeídos ocorre um aumento significativo. Dos 90 para os 180 dias, os teores de HMF e de furfural não variam de forma significativa. Este acréscimo não significativo pode estar relacionado com a ocorrência de reações de condensação entre estes compostos e os compostos fenólicos presentes na aguardente (Es-Safi *et al.*, 2002). Distintamente, o 5-metilfurfural, continua a aumentar de forma significativa dos 90 para os 180 dias, apesar dos elevados desvios-padrão.

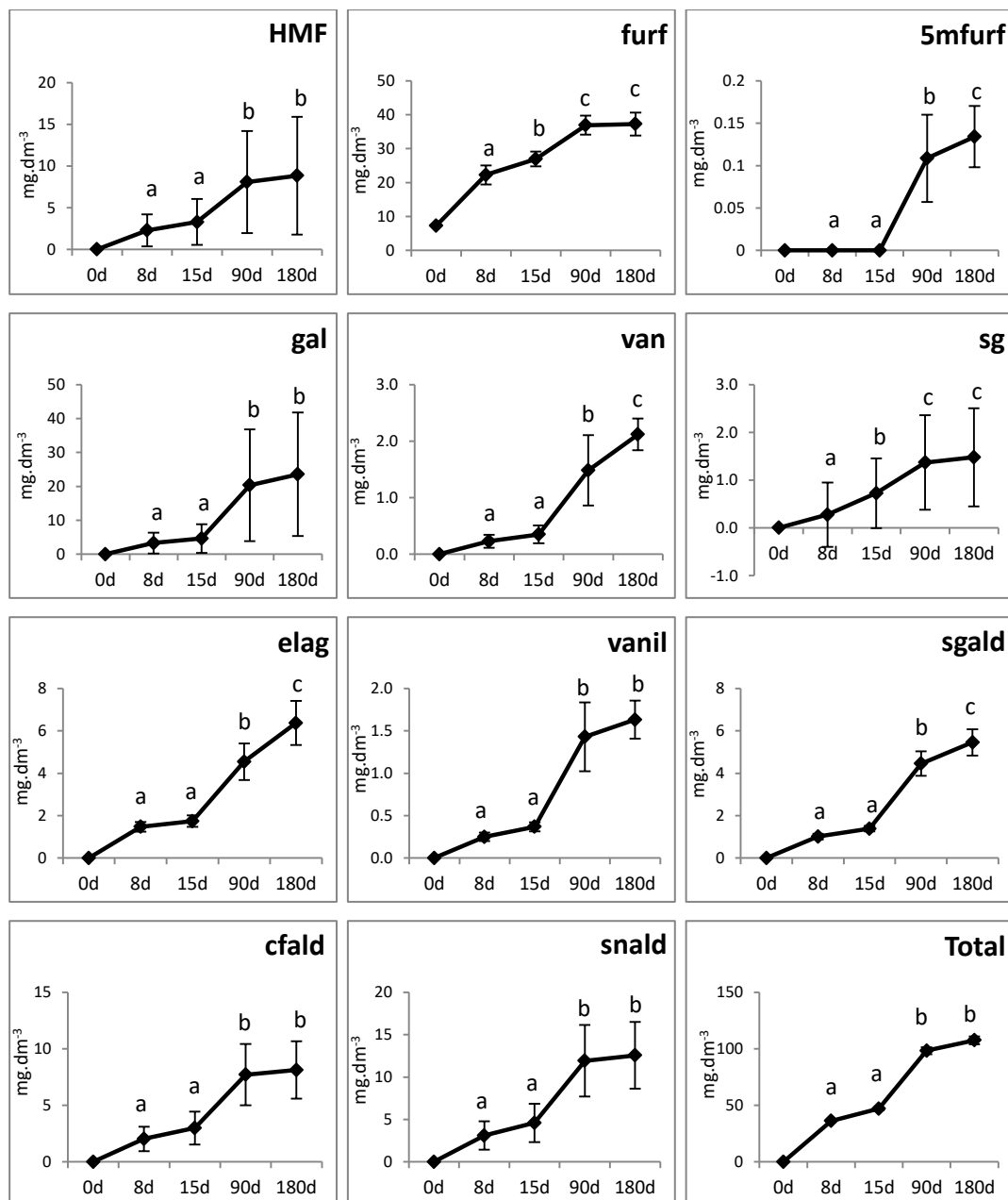


Figura 3.9. Evolução da concentração média dos compostos de massa molecular baixa nos primeiros seis meses de envelhecimento das aguardentes vínicas. Letras diferentes indicam diferença altamente significativa (P=99,9%). HMF – 5-hidroximetilfurfural; furf - furfural; 5mfurf - 5-metilfurfural; gal – ácido gálico; van – ácido vanílico; sg – ácido sirínico; elag – ácido elágico; vanil – vanilina; sgald – siringaldeído; cfald – coniferaldeído; snald – sinapaldeído; Total – total dos compostos de massa molecular baixa.

No caso dos ácidos fenólicos, a evolução dos oito para os 15 dias não é significativa para os ácidos gálico, vanílico e elágico, sendo significativa para o ácido sirínico. Apartir desta etapa do envelhecimento, denota-se um aumento progressivo até aos 180 dias para

os ácidos vanílico e elágico. A cinética destes ácidos pode refletir o efeito do tratamento térmico a que a madeira foi submetida (Rabier e Moutounet, 1990; Nishimura *et al.*, 1983; Viriot *et al.*, 1993). Os ácidos gálico e siríngico não apresentam um acréscimo significativo dos 90 dias para os 180 dias, provavelmente devido ao elevado desvio padrão, tal como referido em III.2.2..

Os aldeídos fenólicos apresentam um perfil de evolução semelhante, à exceção do siringaldeído. Os teores de vanilina, coniferaldeído e sinapaldeído apresentam apenas um aumento significativo dos 15 dias aos 90 dias, indo ao encontro de observações realizadas noutros estudos (Belchior *et al.*, 2001; Canas *et al.*, 2004) que sugerem que é neste intervalo de tempo que a extração é mais acentuada. A cinética do siringaldeído distingue-se pelo aumento significativo ao longo de todo o período de envelhecimento estudado. Recordando que, os aldeídos benzóicos (vanilina e siringaldeído) resultam da oxidação dos aldeídos cinâmicos (coniferaldeído e sinapaldeído) por via da queima e da hidroalcoólise da lenhina durante o envelhecimento, Quaresma (2000) afirma que as cinéticas do coniferaldeído e da vanilina e as do siringaldeído e sinapaldeído parecem encontrar-se relacionadas, uma vez que ao abrandamento do acréscimo do coniferaldeído e do sinapaldeído, corresponde um aumento contínuo da concentração de vanilina e siringaldeído. Com base no cálculo da razão entre grupos guaiacilo e siringilo, Puech (1984) e Quaresma (2000) referem que há uma tendência para o aumento da oxidação relativamente à extração, que desloca o equilíbrio no sentido dos aldeídos benzóicos.

Em termos globais, o aumento do teor total dos compostos de massa molecular baixa analisados resulta da sua progressiva extração da madeira para a aguardente, a qual é mais acentuada entre os 15 dias e os 90 dias, tal como observado por Canas *et al.* (2002) em aguardentes envelhecidas no sistema tradicional. Resumindo, a evolução observada nos teores de compostos de massa molecular baixa indica que, durante os primeiros seis meses de envelhecimento a extração foi preponderante relativamente à oxidação.

De acordo com a análise de variância efetuada, existe interação entre o sistema e o tempo de envelhecimento para: acidez total, acidez volátil, luminosidade, HFM (altamente significativa); ácido gálico (muito significativa); coordenada a*, oxigénio dissolvido, A 470, ácido siríngico e 5-metilfurfural (significativa) - Anexo 7.

III.3. Análise multivariada

A análise multivariada foi efetuada com o propósito de avaliar globalmente o efeito do sistema de envelhecimento e do tempo de envelhecimento, isto é, avaliar a influência destes fatores na qualidade da aguardente vínica, tendo em conta todas as características físico-químicas analisadas nas aguardentes em estudo.

Os resultados obtidos, representados no fenograma (Figura 3.10.), permitem verificar que o tempo de envelhecimento é o fator mais determinante na separação das aguardentes, uma vez que existem dois grupos principais: um composto pelas aguardentes com 8 e 15 dias de envelhecimento, e outro formado pelas aguardentes com 90 e 180 dias de envelhecimento.

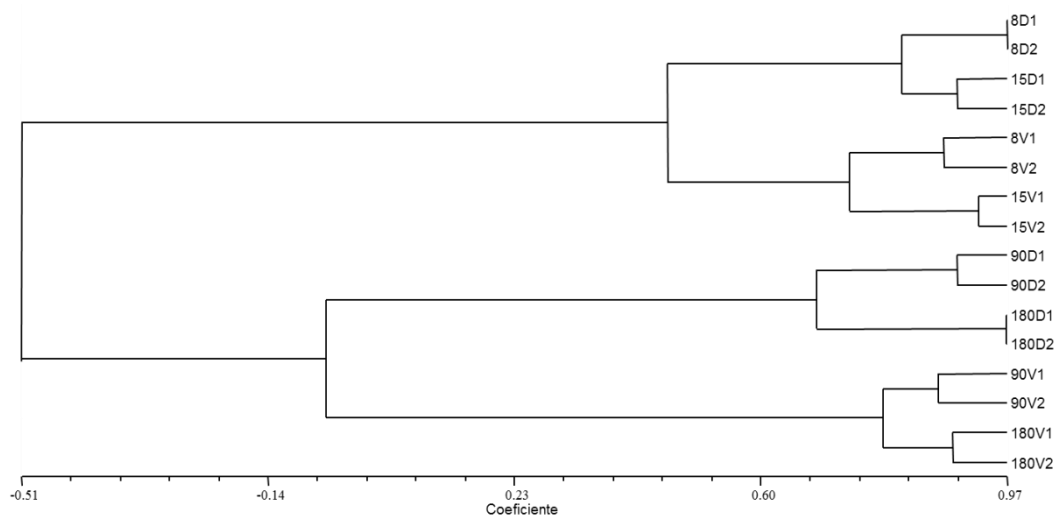


Figura 3.10.- Fenograma UPGMA das aguardentes vínicas envelhecidas durante seis meses nos dois sistemas (V - vasilha de madeira; D - depósito de aço inoxidável com aduelas), em função das características gerais, características cromáticas e compostos de massa molecular baixa analisados.

Dentro de cada grupo existe ainda uma divisão entre aguardentes envelhecidas em depósito e em vasilha. É de salientar a maior variabilidade observada entre aguardentes envelhecidas em diferentes sistemas no grupo que engloba os tempos de envelhecimento de 90 e 180 dias. Este resultado é expectável, uma vez que, com o tempo de envelhecimento, aumenta a concentração de compostos e, consequentemente, a complexidade da aguardente.

Por outro lado, os coeficientes de correlação aparentam ser mais elevados entre aguardentes envelhecidas em depósito com o mesmo tempo de envelhecimento do que entre as envelhecidas em vasilha, exceptuando aos 15 dias, o que pode indiciar que o envelhecimento em depósito permite obter aguardentes mais homogêneas enquanto as aguardentes envelhecidas em vasilha estão sujeitas a maior variabilidade. Esta homogeneidade é um aspeto importante do ponto de vista industrial, já que torna mais previsível o resultado do envelhecimento em sistema alternativo do que no sistema tradicional, apesar de existir sempre alguma variabilidade intra-específica da madeira e a associada ao seu tratamento térmico.

Através da análise em componentes principais, é possível observar a discriminação das aguardentes envelhecidas, com base em todas as características físico-químicas analisadas no ensaio (Figura 3.11.). Constata-se que as três componentes principais, que explicam 95,6% da variância total, permitem separar claramente as aguardentes em estudo em função do sistema de envelhecimento e do tempo de envelhecimento.

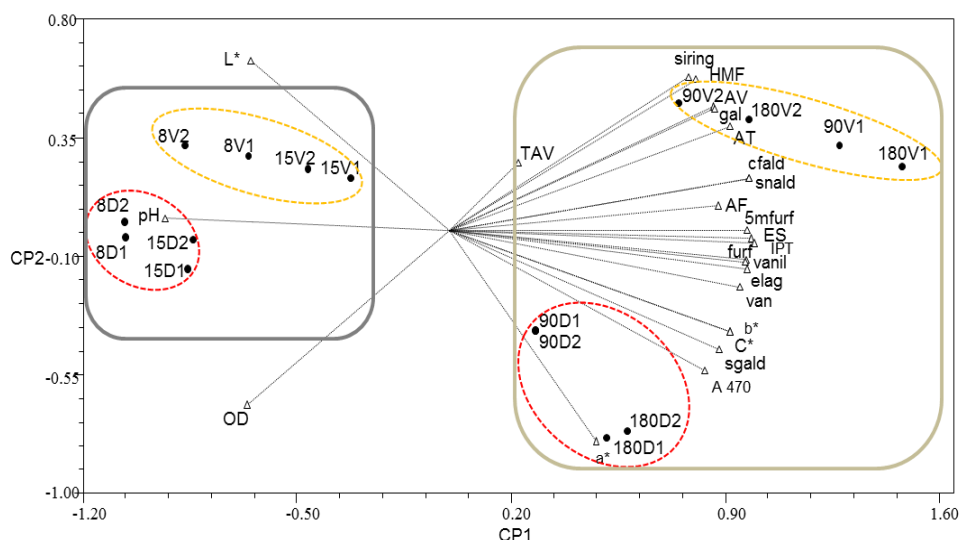


Figura 3.11. Projeção das aguardentes produzidas nos sistemas de envelhecimento ao longo do tempo, e das características físico-químicas analisadas no espaço definido pela 1ª e 2ª componentes principais; V – vasilhas; D – depósitos.

A primeira componente principal (CP1), que explica 75,1% da variância total, encontra-se relacionada com a separação das aguardentes em função do tempo de envelhecimento, definindo dois grupos: aguardentes com 8 e 15 dias de envelhecimento no troço negativo do eixo; aguardentes com 90 e 180 dias no troço positivo. A diferenciação deve-se essencialmente ao índice de polifenóis totais, aos compostos de massa molecular baixa, destacando a importância do furfural, 5-metilfurfural, vanilina, coniferaldeído, sinapaldeído e ácido elágico, e às características cromáticas - coordenada b*, saturação e A 470 - cujos valores dos respectivos vectores são mais elevados no troço positivo da componente em questão, e portanto encontram-se fortemente relacionados com a posição das aguardentes com maior tempo de envelhecimento na CP1. As aguardentes com menor tempo de envelhecimento distinguem-se fundamentalmente pelo pH mais elevado.

Na segunda componente principal (CP2), que explica 15,7% da variância total, verifica-se a separação das aguardentes em função do sistema de envelhecimento: no troço positivo encontram-se as aguardentes envelhecidas em vasilha, e no troço negativo as aguardentes envelhecidas em depósito. Os parâmetros analisados que permitem tal

diferenciação são a luminosidade, no troço positivo, e a coordenada a^* e o teor de oxigénio dissolvido (apesar de menos discriminante) no sentido oposto.

Verifica-se que os resultados da análise multivariada são coerentes com os obtidos na análise de variância de cada característica físico-química das aguardentes, completando o seu estudo.

IV. CONCLUSÕES

Considerando as condições do ensaio, nos primeiros seis meses de envelhecimento da aguardente vínica Lourinhã em sistema tradicional e em sistema alternativo, é possível concluir que o tipo de sistema utilizado e o tempo de envelhecimento, são fatores determinantes das características físico-químicas da mesma.

Inerente a estes fatores, a variabilidade intra-específica da madeira, a intensidade de queima e a forma da madeira têm uma influência relevante no resultado do envelhecimento da aguardente vínica.

Relativamente ao efeito do sistema de envelhecimento verifica-se que:

- As aguardentes envelhecidas em vasilha apresentam maior extrato seco e índice de polifenóis totais, bem como teores superiores da maioria dos ácidos fenólicos, aldeídos fenólicos e aldeídos furânicos detetado, isto é, maior riqueza na composição química, mas menor evolução do ponto de vista cromático que as aguardentes envelhecidas em depósito de aço inoxidável com aduelas. Esta correlação negativa entre a composição química e as características cromáticas sugere a existência de reações desconhecidas que podem ter sido provocadas pela utilização de duas madeiras em simultâneo, por fenómenos específicos de cada sistema de envelhecimento, e/ou pela presença de compostos não fenólicos que influenciam a cor das aguardentes envelhecidas.

- A maior evolução cromática nas aguardentes envelhecidas em depósito, é traduzida por uma maior intensidade da cor e da tonalidade vermelha. A mais acentuada absorvência a 470 nm (refletindo o teor de melanoidinas), reforça a hipótese do papel crucial de compostos não fenólicos, que conferem tonalidades acastanhadas e contribuem para o efeito observado.

- O ensaio baseado no método do “Extrato seco” corrobora as justificações apresentadas para os resultados obtidos relativamente ao efeito do sistema de envelhecimento, explicando a aparente incoerência do teor de extrato seco e do índice de polifenóis totais relativamente à maior evolução das características cromáticas. Constata-se a existência de uma alteração significativa da composição furânica e fenólica, após aplicação do método do “Extrato seco”, com a diminuição de alguns destes compostos, sobretudo de furfural e de ácido sirínico, e a existência de outros de natureza não fenólica, que contribuem para a cor das aguardentes envelhecidas.

- De entre os compostos de massa molecular baixa identificados e quantificados nas aguardentes em estudo, os teores de 5-hidroximetilfurfural, ácido gálico, coniferaldeído e sinapaldeído, são significativamente superiores nas envelhecidas em vasilha quando

comparados com os das aguardentes envelhecidas em depósito, pelo que podem constituir elementos diferenciadores do tipo de sistema de envelhecimento. A variabilidade detetada nos teores de aldeídos fenólicos nos diferentes sistemas sugere a ocorrência de reações químicas que se desencadeiam de maneira diferente em cada um deles.

- As aguardentes envelhecidas em vasilha possuem menor teor de oxigénio dissolvido do que as envelhecidas em depósito. Este fato, que traduz um maior “consumo” de oxigénio, sobretudo no início do envelhecimento, poderá estar relacionado com a maior extração de compostos fenólicos da madeira, atendendo a que a extração já envolve alguma oxidação.

- A prova organoléptica revela apenas a existência de um descritor que diferencia significativamente as aguardentes envelhecidas nos dois sistemas - a baunilha - diferenciando-se do verificado analiticamente, o que poderá ser explicado pelo seu baixo limiar de deteção olfativa. Relativamente à cor observada pelos provadores, encontra-se uma forte correlação com as características cromáticas.

Em termos gerais verifica-se que, ao fim de seis meses de envelhecimento, o sistema alternativo constituído por depósitos de aço inoxidável com aduelas em contacto com a aguardente vínica não permitiu a aquisição das características químicas alcançadas pela mesma aguardente envelhecida em sistema tradicional. Já em termos cromáticos, foi conseguida uma maior evolução das aguardentes envelhecidas no sistema alternativo relativamente ao tradicional. Contudo, do ponto de vista organoléptico, não se observam diferenças significativas nas apreciações de aroma, sabor e global, apesar de serem preferidas as aguardentes envelhecidas em depósito, o que parece sugerir que o envelhecimento das aguardentes neste sistema pode ter interesse tecnológico relativamente ao envelhecimento tradicional na produção de aguardentes vínicas envelhecidas.

Importa realçar, no entanto, que o recurso a sistemas alternativos não pressupõe o abandono do sistema tradicional no curto-médio prazo, na medida em que este está associado à obtenção de aguardentes de elevada qualidade. A coexistência de sistemas encontra justificação, pelo menos no presente, como uma forma de garantir o rendimento do produtor de aguardente através da comercialização de aguardentes mais jovens.

No respeitante ao efeito do tempo de envelhecimento, conclui-se que:

- A variabilidade intra-específica da madeira, a forma da madeira e o tratamento térmico, condicionam as cinéticas de extração/oxidação da aguardente envelhecida nos sistemas de envelhecimento em análise. Demonstra-se que os coeficientes de correlação aparentam ser mais elevados entre aguardentes envelhecidas em depósitos do que as envelhecidas em vasilhas. Este resultado, poderá ter importância para a indústria na

previsão das características do produto final, que são mais homogêneas no envelhecimento em sistema alternativo.

- Existe concordância com os resultados do projeto anterior, semelhante a este mas realizado em escala piloto, relativamente à evolução da cor ao longo do envelhecimento, isto é, diminuição da luminosidade, acréscimo da saturação e aumento das tonalidades vermelho-amarelo (associadas às coordenadas a^* e b^* , respetivamente).

- O tempo exerce um efeito significativo nas alterações da composição fenólica e furânica, traduzido pelo aumento dos seus teores, que resultam da sua progressiva extração da madeira pela aguardente vínica. Esta evolução indica que, durante os primeiros seis meses de envelhecimento, a extração foi preponderante relativamente à oxidação nos dois sistemas de envelhecimento.

Em termos globais, através da análise multivariada, verifica-se que o tempo de envelhecimento é o fator que mais afecta as características da aguardente envelhecida e contribui para a sua diferenciação.

Os resultados deste trabalho permitem perspetivar futuras pesquisas neste domínio, no sentido de procurar uma alternativa associada a um menor custo em madeira e a uma menor imobilização da aguardente vínica, definindo condições de envelhecimento que possibilitem o ajustamento dos parâmetros avaliados, estabelecendo, por exemplo, diferentes razões superfície/volume entre sistemas alternativo e tradicional e/ou aplicando estas tecnologias alternativas para a inovação de produtos.

V. Bibliografia

- Afonso V.L.G., 2002. Sensory descriptive analysis between white wines fermented with oak chips and in barrels. *J. Food Sci.*, **67**, 2415-2419.
- Alañón M.E., Rubio H., Diaz-Maroto M.C., Pérez-Coello M.S. Monosaccharide anhydrides, new markers of toasted oak wood used for ageing wines and distillates. *Food Chem.*, **119**, 505-512.
- Amado S., 2014. Efeitos de diferentes tecnologias de envelhecimento no perfil sensorial de aguardentes vínicas. 43 pp. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária. Castelo Branco.
- Arapitsas P., Antonopoulos A., Stefanou E., Dourtoglou V.G., 2004. Artificial ageing of wines using oak chips. *Food Chem.*, **86**, 563-570.
- Artajona J., Barbero E., Ljobet M., Marco J., Parente F., 1991. Influence du “bousinage” de la barrique sur les qualités organoléptiques des brandies vieilles en fut de chene. In: Les eaux de vie traditionnelle d'origine viticole. 197-205 Bertrand, A(ed.), Lavoisier – TEC&DOC, Paris.
- Avakiants S., 1992. Régulation des processus de vieillissement des eaux-de-vie. Elaboration e connaissance des spiritueux. In: *Élaboration et connaissance des spiritueux*. 595-600, Cantagrel R. (ed.), Lavoisier - TEC & DOC, Paris.
- Barbe J., Ferreira A. C. S., Bertrand A., 1998. Dosage de dérivés furaniques et pyraniques issus du bois de chêne. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **2**, 77-82.
- Bakker J., Bridle P., Timberlake C. F., 1986. Tristimulus measurements (CIELab 76) of port wine colour. *Vitis*, **25**, 67-78.
- Barros P., 1993. Colorimétrie CIELab appliquée au vin du porto. *Feuillet Vert OIV*, **934**, 1- 14.
- Bate and Smith E. C., 1977. Astringent tannins of Acer species. *Phytochem.*, **16**, 1421-1426.
- Belchior A. P., 1983. A cor das aguardentes vínicas envelhecidas: métodos espectrofotométrico de determinação e relação com os teores em fenólicos totais. *Cienc. Tec. Vitiv.*, **2**, 29-37.
- Belchior A.P., 1987. Aguardentes velhas II: o vinho. Escanção.
- Belchior A. P., 1986. Aguardentes velhas I: aspetos gerais do seu fabrico. Escanção. **3**, 15-16.
- Belchior A.P., Almeida T.G.T., Mateus A.M., Canas S., 2003. Ensaio laboratorial sobre a cinética de extração de compostos de baixa massa molecular da madeira pela aguardente. *Cienc. Téc. Vitiv.*, **18**, 29-41.
- Belchior A.P, Caldeira I., Costa S., Lopes C., Tralhão G., Ferrão A.F.M., Mateus Ana M., 2001. Evolução das características físicoquímicas e organolépticas de aguardentes Lourinhã ao longo de cinco anos de envelhecimento em madeiras de carvalho e castanheiro. *Cienc. Tec. Vitiv.*, **16**, 81-94.
- Belchior A.P, Carvalho E.C., 1984. *Métodos de Análise de Aguardentes. I. Análise clássica*. 33 p. EVN, Dois Portos.
- Belchior A.P., Carvalho E.C., 1991. Étude comparative d'indicateurs pour le dosage de l'acidité totale des eaux-de-vie de vin. *Feuillet Vert OIV*, **907**, 1-5.
- Belchior A.P., Mateus, A.M., Soares A.M., 2005. Comparaison du vieillissement de l'eau-de-vie Lourinhã en fûts de châtaignier et de chêne et en deux volumes. *Cienc. Téc. Vitiv.*, **20**, 91-103.
- Belchior A. P., San Romão V., 1982. Influence de l'oxygène et de la lumière sur l'évolution de la composition phénolique des eaux-de-vie vieilles en bois de chêne. Ull. Liason Groupe Polyphenols, **11**, 598-604.
- Biermann C.S., Ginnis G., Schultz T.P., 1987. Scanning electron microscopy of mixed hardwoods subjected to various pretreatment processes. *J. Agr. Food. Chem.*, **35**, 713-716.
- Borrelli R. C., Visconti A., Memmella C., Anese M., Fogliano V., 2002. Chemical characterization and antioxidante properties of coffee melanoidins. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6527-6533.
- Brien C., May P., Mayo O., 1987. Analysis of judge performance in wine quality evaluations. *Journal of Food Science*, **52** (3), 1273 – 1279.

- Cabrita M.J., Barrocas Dias C., Costa Freitas A.M., 2011. Phenolic Acids, Phenolic Aldehydes and Furanic Derivatives in Oak Chips: American vs. French Oaks. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **32**, 204-211.
- Caldeira, I., 2004. *O aroma de aguardentes víquicas envelhecidas em madeira. Importância da tecnologia de tanoaria*. 238 pp. Dissertação para obtenção do grau de doutor em Engenharia Agro-Industrial, Instituto Superior de Agronomia–Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Caldeira I., Anjos O., Portal V., Belchior A.P., Canas S., 2010. Sensory modifications of wine- brandy aged with chestnut and oak wood fragments in comparison to wooden barrels. *Anal. Chim. Acta*, **660**, 43-52.
- Caldeira I., Belchior A.P., Clímaco M.C., Bruno de Sousa R., 2002. Aroma profiles of Portuguese brandies aged in chestnut and oak woods. *Anal. Chim. Acta*, **458**, 55-62.
- Caldeira I., Belchior A.P., Canas S., 2013. Effect of alternative ageing systems on the wine brandy sensory profile. *Ciência Téc. Vitic.*, **28**, 9 – 18.
- Caldeira I., Canas S., Costa S., Carvalho E.C., Belchior A.P., 1999. Formação de uma câmara de prova organoléptica de aguardentes velhas e selecção de descritores sensoriais. *Ciência Téc. Vitic.*, **14** (1), 21 – 30.
- Caldeira I., Mateus A.M., Belchior A.P., 2006. Flavour and odour profile modifications during the first five years of Lourinhã brandy maturation on different wooden barrels. *Anal. Chim. Acta*, **563**, 264-273.
- Caldeira I., Pereira R., Clímaco M.C., Belchior A.P., Bruno-de-Sousa R., 2004. Improved method for extraction of aroma compounds in aged brandies and aqueous alcoholic wood extracts using ultrasound. *Anal. Chim. Acta*, **513**, 125-134.
- Câmpeanu R., Lonescu M., Gavrilescu I., 1992. Evolution des divers constituants volatils et non volatils des eaux-de-vie de vin au cour de leur vieillissement en fûts de chêne. In: *Élaboration et connaissance des spiritueux*, 589-594, Cantagrel R. (Ed.), Lavoisier – Tec & Doc, Paris.
- Campbell J., Sykes M, Sefton M., Pollnitz A., 2005. The effect of size temperature and air contact on the outcome of heating fragments. *Aust. J. Grape Win Res.*, **34**, 1245-1252.
- Campos L. S. 1987. Guia dos compostos orgânicos e bioquímicos. Coleção Universidades. 517 pp. Europress, editores e Distribuidores de Publicações, Lda., Odivelas.
- Canas, S. 2003. *Estudo dos compostos extraíveis de madeira (Carvalho e Castanheiro) e dos processos de extração na perspectiva do envelhecimento em Enologia*. 303p. Tese de Doutouramento em Engenharia Agro-Industrial, UTL-ISA, Lisboa, Portugal.
- Canas S., Belchior A.P., 2013a. Effects of caramel addiction on the characteristics of wine brandies. *Ciência Téc. Vitic.*, **28**(2), 51 – 58.
- Canas S., Belchior A.P., Caldeira I., Spranger M.I., Bruno de Sousa R., 2000a. La couleur et son évolution dans les eaux-de-vie *Lourinhã* pendant les trois premières années du vieillissement. *Cienc. Tec. Vitiv.*, **15**, 1-14.
- Canas S., Belchior A.P., Falcão A., Gonçalves J.A., Spranger M.I., Bruno de Sousa R., 2007. Effect of heat treatment on the thermal and chemical modifications of oak and chestnut wood used in brandy ageing. *Ciência Tec. Vitiv.*, **22**, 5-14.
- Canas S., Belchior A.P., Mateus A.M., Spranger M.I., Bruno de Sousa R., 2002. Kinetics of impregnation/evaporation and release of phenolic compounds from wood to brandy in experimental model. *Cienc. Tec. Vitiv.*, **17**, 1-14.
- Canas S., Belchior, A.P., Spranger, M.I., Bruno de Sousa, R., 2003. High-performance liquid chromatography method for analysis of phenolic acids, phenolic aldehydes and furanic derivatives in brandies. Development and validation. *J. Sep. Sci.*, **26**, 496-502.
- Canas S., Caldeira I., Belchior A.P., 2009a. Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Oxygenation and wood shape effect. *Cienc. Tec. Vitiv.*, **24**, 33-40.
- Canas S., Caldeira I., Belchior A.P., 2009b. Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Wood shape and wood botanical effect. *Cienc. Tec. Vitiv.*, **24**, 91-99.
- Canas S., Caldeira I., Belchior A.P., 2013b. Extraction/oxidation kinetics of low molecular weight compounds in wine brandy produced in alternative ageing systems. *Food Chem.*, **138**, 2460 – 2467.

- Canas S., Caldeira I., Belchior A.P., Spranger M. I., Clímaco M- C., Bruno de Sousa R., 2011. Chestnut wood: A sustainable alternative for the aging of wine brandies. In: Food quality Control, analysis and consumer concerns 181-229. Medina D. & Laine A.(ed.) Nva Science Publishers,Inc., New York.
- Canas, S., Caldeira, I., Leandro, M. C., Spranger, M. I., Clímaco, M. C., Belchior, A. P. 1998. Phenolic compounds in a Lourinhã brandy extracted from different woods. In: *XIXth International Conference Polyphenol*, **2**, 373-374.
- Canas S., Caldeira I., Mateus A., Belchior A.P., Clímaco C., Bruno-de Sousa R., 2006. Effect of natural seasoning on the chemical composition of chestnut wood used for barrel making. *Ciência Téc. Vitiv.*, **21**, 1-16.
- Canas S., Casanova V., Belchior A.P., 2008. Antioxidant activity and phenolic content of Portuguese wine aged brandies. *J. Food Compos. Anal.*, **21**, 626-633.
- Canas S., Grazina N., Spranger M.I., Belchior A.P., 2000c, Modelisation of heat treatment of Portuguese oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.). Analysis of the behaviour of low molecular weight phenolic compounds. *Ciência Tec. Vitiv.*, **15**, 75-94.
- Canas, S., Leandro, M. C., Spranger, M. I., & Belchior, A. P. 1999. Low molecular weight organic compounds of chestnut wood (*Castanea sativa* L.) and corresponding aged brandies. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 5023–5030.
- Canas S., Leandro M.C., Spranger M.I., Belchior A.P., 2000b. Influence of botanical species and geographical origin on the content of low molecular weight phenolic compounds of woods used in Portuguese cooperage. *Holzforschung*, **54**, 255-261.
- Canas S., Spranger M.I., Belchior A.P., Bruno-de-Sousa R., 2004. Isolation and identification by LC-ESI-MS of hydrolyzable tannins from *Quercus pyrenaica* Willd. and *Castanea sativa* Mill. heartwoods. In: *Proceedings of the 4th Tannin Conference*. 4. Philadelphia.
- Cantagrel R. 2008. La qualité et le renom du Cognac dans le monde, sa place dans l'histoire. In: Les eaux de vie traditionnelle d'origine viticole. 15-38 Bertrand, A(ed.), Lavoisier – TEC&DOC, Paris.
- Cantagrel R., Mazerolles G., Vidal J.P., Galy B., Boulesteix J.M., Lablanquie O., Gaschet J, 1992. Evolution analytique et organoleptique des eaux-de-vie de Cognac au cours du vieillissement. Elaboration e connaissance des spiritueux
- Carvalho A., 1997. Madeiras Portuguesas. Estrutura Anatómica. Propriedades. Utilizações. Vol II. 415 p. Direcção Geral das Florestas, Lisboa.
- Carvalho E. C., Belchior A.P., 1983. Influência do aquecimento do Alambique Charantais no rendimento e qualidade da aguardente. *Ciência téc. Vitic.* **2(1)**, 1-8.
- Carvalho A., 1998. Identificação anatómica e caracterização física e mecânica das madeiras utilizadas no fabrico de quartolas para produção de aguardentes velhas de qualidade-denominação Lourinhã. *Ciência Tec. Vitiv.*, **13**, 71-105.
- Chang A., 2004. The effects of different accelerating techniques on maize wine maturation. *Food Chem.* **86**, 61-68.
- Chatonnet P., 1995. Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité de vins élevés en fûts de chêne. Thèse doctorat, Université de Bordeaux II, Institut d'oenologie: Bordeaux, 268 pp.
- Chatonnet P., Boidron J.N., Dubourdiou D., 1994. Évolution de certains composés volatils du bois de chêne au cours de son séchage. Premiers résultats. *J. Intern. Sci. Vigne Vin*, **28**, 359-380.
- Chatonnet P., Dubourdiou D., 1998. Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*) for production of barrels used in barrel aging of wines. *Am. J. Enol. Vit.*, **49**, 79–85.
- Chatonnet P., Boidron J.N., Dubourdiou D., 1993. Maitrise de la chauffe de brûlage en tonnellerie. Application à la vinification et à l'élevage des vins en barriques. *Ver. Fr. Oenol.*, **144**, 41-53.

- Chatonnet P., Boidron J.N., Pons M., 1989. Incidence du traitement thermique du bois de chêne sur sa composition chimique. 2e partie: Évolution de certains composés en fonction de l'intensité de brûlage. Définition des paramètres thermiques de la chauffe des fûts en tonnellerie. *Conn. Vigne Vin*, **4**, 223-250.
- Clímaco M. C., Avelar M., Eiriz I., Caldeira I., Rodrigues V., Miguel V., Sardinha J., 2004. Fragmentos de madeira versus quartolas no envelhecimento de vinhos tintos. Livro de actas do 6º simpósio de vitivinicultura do Alentejo. 148- 155.
- Clímaco M.C., Belchior A.P., Spranger M.I., 1985. Contribuição para o estudo do envelhecimento do vinho tinto em madeira de carvalho e castanho. *Cienc. Tec. Vitic.*, **4**, 57-68.
- Cutzach I., Chatonnet P., Henry R., Dubourdieu, 1997. Identification of volatile compounds with a "toasty" aroma in heated oak used in barrel making. *J Agric. Food Chem.*, **45**, 2217-2224.
- De Beer D., Joubert E., Marais J., du Toit W., Fourie B., ManleyM., 2009. Characterisation of pinotage wine during maturation on different oak products. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **29**, 39-49.
- Deibner L., Jouret C., Puech J.-L., 1976. Substances phenoliques des eaux-de-vie d'Armagnac. I. La lignine d'extraction et les produits de sa degradation. *Ind. Alim. Agric.*, **3**, 401-414.
- Del Álamo M., Domínguez I.N., Cárcel L.M.C., Navas Gracia L., 2004. Analysis for low molecular weight phenolic compounds in a red wine aged in oak chips. *Anal. Chim. Acta*, **513**, 229-237.
- Del Álamo M., Nevares I., 2006. Wine aging in bottle from artificial systems (staves and chips) and oak woods Anthocyanin composition . *Anal. Chim. Acta*, **563**, 265-273
- Del Álamo M., Nevares I., Gallego L., Martin C., Merino S., 2008. Ageing markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Anal. Chim. Acta*, **621**, 86-99.
- Del Alamo M., Nevares Dominguez I., Gallego L., Simón B., Cadahía E., 2010. Micro-oxygenation strategy depends on the orogin and size of oak ships or staves durins accelerated red wine aging. *Anal. Chim. Acta*, **660**,92-101.
- Doussot F., Jéso B., Quideau S., Pardon P., 2002. Extractives content in cooperage oak wood during natural seasoning and toasting, influence of tree species, geographic location, and single-tree effects. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5955-5961.
- Dubois P., 1989. Apports du fût de chêne neuf a l'arôme des vins. *R. F. Oenol.*, **120**, 19 – 24.
- Eiriz N., 2007. Fragmentos de madeira de carvalho no envelhecimento de vinhos tintos. Dissertação do curso de mestrado em Tecnologia Alimentar/ qualidade, Faculdade de ciências e tecnologia da Universidade Nova de Lisboa. 70pp.
- Escalona H., Birkmyre L., Piggott J.R., Paterson A.,2002. Effect of maturation in a small oak casks on the volatility of red wine aroma compounds. *Anal. Chim. Acta*, **458** , 45-54.
- Es-Safi N., Cheynier V., Moutounet M., 2000. Study of the reactions between (+)-catechin and furfural derivatives in the presence or absence of anthocyanins and their implication in food color change. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 5946-5954.
- Es-Safi N., Cheynier V., Moutounet M., 2002. Role of aldehydes in the condensation of phenolic compounds with emphasis on food organoleptic properties. *In: Proceedings of the XXIth International Conference on Polyphenols*, vol.1, 217-218, El Hadrami I. (Ed.), Marrekech, Morocco.
- Estreguil S., Galy B., Loiseau B., Lurton L. 2008. L'Armagnac. In *Les eaux de vie traditionnelles d'origine viticole*. 65-71. Bertrand, A. (ed.), *Lavoisier – TEC&DOC*, Paris.
- Fan W., Xu Y., Yu A., 2006. Influence of oak chips geographical origin, toast level, dosage and aging time on volatile compounds of apple cider. *J. Inst. Brew.*, **112**, 255-263.
- Fengel, D., & Wegener, G. (1989). *Wood chemistry, ultrastructure, reactions*, Berlin: Walter de Gruyter & Co. 319–342.
- Feuillat F., Keller R., 1997. Variability of oak wood (*Quercus robur* L., *Quercus petraea* Liebl.). Anatomy relating to cask properties. *Am. J. Enol. Vitic.*, **48**, 502-508.

- Frangipane M.T., De Santis D., Ceccarelli A., 2007. Influence of oak woods of different geographical origins on quality of wines aged in barriques and using oak chips. *Food Chem.*, **103**, 46-54.
- Gambutì A., Capuano R., Lisanti T., Strollo D., Moio L., 2010. Effect of aging in new oak, one year used oak, chestnut barrels and bottle on color, phenolic and gustative profile of three monovarietal red wines. *Eur. Food Res. Techn.* **231** 455-465.
- Garreau C. 2008. L'Armagnac. In *Les eaux de vie traditionnelles d'origine viticole*. 39-60. Bertrand, A. (ed.), Lavoisier – TEC&DOC, Paris.
- Gokmen V., Senyuva H.Z., 2006. Study of colour and acrylamide formation in coffee, wheat flour and potato chips during heating. *Food Chem.*, **99**, 238-243.
- Goldberg D.M., Hoffman B., Yang J., Soleas G.J., 1999. Phenolic constituents, furans, and total antioxidant status of distilled spirits. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3978-3985.
- Guchu E., Díaz-Maroto M.C., Pérez-Coelho M.S., González-Viñas M.A., Ibáñez M.D.C., 2006. Volatile composition and sensory characteristics of Chardonnay wines treated with American and Hungarian oak chips. *Food Chem.*, **99**, 350-359.
- Guichard E., Fournier N., Masson G., Puech J.-L. 1995. Stereoisomers of β -methyl- γ -octalactone. I-Quantification in brandies as a function of wood origin and treatment of the barrels. *Am. J. Enol. Vitic.* **46**, 419-423.
- Hale M. D., McCafferty K., Larmie E., Newton J., Swan J. S., 1999. The influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of the wine. *Am. J. Enol. Vit.*, **50**, 495-502.
- Herve du Penhoat C.L.M., Michon V.M.F., Peng S., Viriot C., Scalbert A., Gage D., 1991. Structural elucidation of new dimeric ellagitannins from *Quercus robur* L. Roburins A-E. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1**, 1653-1660.
- Hillis W., 1984. High temperature and chemical effects on wood stability. *Wood Sci. Technol.*, **18**, 281 – 293.
- Hofmann T., 1998. Characterization of the most intense coloured compounds from Maillard reactions of pentoses by application of colour dilution analysis. *Carbohydr. Res.*, **313**, 203-213.
- Hodge W., 1967. Heartwood and tree exudates. 268 pp. Springer-Verlag, Berlin.
- Jeuring H. J., Koppers J.E.M., 1980. High performance liquid chromatography of furfural and hydroxymethylfurfural in spirits and honey. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 1215-1218.
- Jim V., Taan V., Herman V., 2010. Analytical challenges in odour measurement: Linking human nose with advanced analytical techniques. *Chem. Engineering Transactions*, **23**, 61-65.
- Joseph E., Marché M., 1972. Contribution à l'étude du vieillissement du Cognac. Identification de la scopolétine, de l'aesculetine, de l'ombelliférone, de la β -méthyl-ombelliférone, de l'aesculine et de la scopoline, hétérosides provenant du bois.. *Connaissance Vigne Vin*, **6**, 273-330.
- Jordão A. M., 2007. Teores em Taninos Elágicos e Compostos Voláteis Presentes na Madeira de Carvalho da Espécie *Quercus pyrenaica* Willd. Utilizada na Indústria de Tanoaria. *Silva Lusitana*, **15**, 202-213.
- Jordão A. M., Ricardo da Silva J.M., Laureano O., 2005. Comparison of volatile composition of cooperage oak wood of different origins (*Quercus pyrenaica* vs. *Quercus alba* and *Quercus petraea*). *Mitteilungen Klosterneuburg*, **55**, 22-31.
- Kelly M., Wollan D., 2003. Micro-oxygenation of wine in barrels. *Aust. & N. Z. Grap. Wine*, Annual Technical Issue, 45-50.
- Koussissi E., Dourtoglou V.G., Ageloussis G., Paraskevopoulos Y., Dourtoglou T., Paterson A., Chatzilazarou A., 2009. Influence of toasting of oak chips on red wine maturation from sensory and gas chromatographic headspace analysis. *Food Chemistry*, **114**, 1503-1509.

- Lafon J. 1964. Problèmes actuels de technologie et de vieillissement des eaux-de-vie de vin net marc raisin. Bulletin de L'O.I.V..
- Leauté R., 1990. Distillation in Alambic. *Am. J. Vitic. Enol.*, **41**, 90-103.
- Leclaire E., Cantagrel R., Maignial L., Snakkers G., Ferrari G., 1999. Essai de caractérisation aromatique d'eaux-de-vie nouvelles de Cognac. *J. Intern. Sci. Vigne Vin*, **33**, 133-141.
- Lima M., Belchior A.P., Eastbrook G., 1988. Uniformity and constancy of wine tasters evaluating the same wine in two different occasions. *Ciência Téc. Vitic.*, **7**(2), 73 – 85.
- Madrera R.R., Gomis D.B., Alonso J.J.M., 2003. Influence of distillation System, oak wood type, and aging time on volatile compounds of cider brandy. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 5709-5714.
- Madrera R.R., Valles B. Garcia Y., Arguëlles P., Lobo A., 2010. Alternative woods for aging Distillates- An insight into their phenolic profiles and antioxidant activities. *Food Sci. Biotechnol.* **19**, 1129-1134.
- Maga J.A., 1985. Flavor contribution of Wood in alcoholic beverages. In: Progress in flavor research 1984. Adda J. (ed.) 409-416.
- Marché M., Joseph E., Goizet A., Audebert J., 1975. Étude théorique sur le cognac et son vieillissement en fût de chêne. *R. F. Oenol.*, **57**, 1 – 17.
- Marco J., Artajona J., Larrechi M.S., Rius F.X., 1994. Relationship between geographical origin and chemical composition of wood for oak barrels. *Am. J. Enol. Vitic.*, **45**, 192-200.
- Martins N., Garcia R., Silva M., Cabrita M., 2012. Volatile compounds from oak, cherry, Chestnut and acacia: Influência do nível de queima. *Ciência téc. Vitic.*, **27**(1), 49 – 57.
- Martins S.I.F.S., Van Boekel M.A.J.S., 2003. Melanoidins extinction coefficient in the glucose/glycine Maillard reaction. *Food Chem.*, **83**, 135-142.
- Martinez R. G., Serrana H. L., Mir M., Alarcón M., Herrera M., Vique C., Martínez C., 2001. Study of Vanillin, Syringaldehyde and Gallic Acid Content in Oak Wood and Wine Spirit Mixtures: Influence of Heat Treatment and Chip Size. *Wine Research*, **12**, 175-182.
- Masson E., Baumes R., Moutounet M., Puech J.-L., 2000. The effect of kiln-drying on the levels of ellagitannins and volatile compounds of European oak (*Quercus petraea* Liebl.) stave wood. *Am. J. Enol. Vitic.*, **51**, 201-214.
- Masson G., Moutounet M., Puech J.-L., 1995. Ellagitannin content of oak wood as a function of species and of sampling position in the tree. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 262-268.
- Masson G., Puech J.-L., Moutounet M., 1996. Composition chimique du bois de chêne de tonnellerie. *BULL. OIV*, **785**, 635-657.
- Miller, D. P., Howell, G. S., Michaelis, C. S., & Dickman, D. I., 1992. The content of phenolic acid and aldehyde flavor components of white oak affected by site and species. *Am. J. Enol. Vit.*, **43**, 333–338.
- Monties B., 1992. Composition chimique des bois de chêne: composés phénoliques, relations avec quelques propriétés physiques et chimiques susceptibles d'influencer la qualité des vins et des eaux-de-vie. In: Le bois et la qualité des vins et eaux-de-vie. 59-72. Vigne et Vin Publ. Intern. Bordeaux.
- Morales M.L., Benitez., Troncoso A.M., 2004. Accelerated aging wine vinegars with oak chips: evaluation of wood flavour compounds. *Food Chem.*, **88**, 305-315.
- Mosedale J. R., 1995. Effects of oak wood on the maturation of alcoholic beverages with particular reference to whisky. *Forestry*, **68**, 203-230.
- Mosedale J., 1996. Variation of the flavor and extractives of European oak wood from two French forests. *J. Sci. Food. Agric.*, **70**, 273 – 283.
- Mosedale J. R., Puech J.-L., Feuillat F., 1999. The influence of wine flavour of the oak species and natural variation of the heartwood components. *Am. J. Enol. Vit.*, **50**, 503-513.

- Mourgues J., Jouret C., Moutounet M., 1973. Détermination du taux d'oxygène dissous et du potentiel oxydo-réducteur des eaux-de-vie d'armagnac au cours de leur maturation. *Ann. Technol. Agric.*, **22**, 75-90.
- Moutounet M., Mazauric J.P., Saint-Pierre B., Hanocq J.F., 1998. Gaseous exchange in wines stored in barrels. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **4**, 115-129.
- Moutounet M., Puech J.-L., Keller R., Feuillat F., 1999. Les caractéristiques du bois de chêne en relation avec son utilisation en oenologie. Le phénomène de duramization et ses conséquences. *Technol. Agric.*, **22**, 75-90.
- Nevares I., Del Álamo M., 2008. Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Anal. Chim. Acta.* **621**, 68-78.
- Nevares I., Del Álamo M., Cárcel M., Crespo R., Martín C., Gallego L., 2009. Measure the Dissolved Oxygen Consumed by red wines in aging tanks. *Food Bioprocess Technol.* **2** 328-336.
- Nishimura K., Matsuyama R., 1989. Maturation and maturation chemistry. In: The science and technology of whiskies. Cap. 8, 235-263. Piggott J.R., Sharp R., Duncan R.E.B. (eds.), Longman Scientific & Technical, Essex.
- Nishimura K., Ohnishi M., Masahiro M., Kunimasa K., Ryuichi M., 1983. Reactions of wood components during maturation. In: Flavour of distilled beverages: origin and development, 241-255, Piggott, J.R. (Ed.), Ellis Horwood Limited, Chichester.
- Nobre da Veiga J., 1954. Tanoaria e Vasilhame. 259 pp. Coleção A terra e o Homem, **28**, Livraria Sá da Costa, Lisboa.
- Nykanen L., Nykanen I., Moring M., 1984. Aroma compounds dissolved from oak chips by alcohol. In: Progress of flavour research, 339-346, Adda J. (Ed.), Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam.
- OIV, 2014. Recueil des méthodes internationales d'analyse des boissons spiritueuses, des alcools et de la fraction aromatique des boissons. 277 pp., OIV, Paris.
- Onishi M., Guymon J. L., Crowell E. A., 1977. Changes in some volatile constituents of brandy during aging. *Am. J. Enol. Vit.*, **38**, 152-158.
- Ortega-Heras M., González-huerta C., Herrera P., González-Sanjosé M.L., 2004. Changes in wine volatile compounds of varietal wines during ageing in wood barrels. *Anal. Chim. Acta.* **513**, 341-350.
- Patrício I., Canas S., Belchior A.P., 2005. Effect of brandies' agitation on the kinetics of extraction/oxidation and diffusion of wood extractable compounds in experimental model. *Ciência Tec. Vitiv.*, **20**, 1-15.
- Peng S., Scalbert A., Monties B., 1991. Insoluble ellagitannins in *Castanea sativa* and *Quercus petraea* woods. *Phytochem.*, **30**, 775-778.
- Pérez-Magariño S., Ortega-Heras M., Cano-Mozo E., González-Sanjosé M.L., 2009. The influence of oak chips, micro-oxygenation treatment and grape variety on colour, and anthocyanin and phenolic composition of red wines. *Journal of food Composition and analysis*, **22** 204-211
- Plouvier L., 2008. Histoire de la distillerie artisanale. In: Les eaux de vie traditionnelles d'origine viticole. 3-10 Bertrand, A (ed.), Lavoisier – TEC&DOC, Paris.
- Piracci, A., Bucelli, P., Faviere, V., Giannetti, F., Scalzo, R., & Novello, E., 2001. Frammenti legnosi oak-chips e staves: contributo alla stabilizzazione del colore. *L'Oenologo*, **10**, 103-109.
- Prida A., Puech J.L., 2006. Influence of geographical origin and botanical species on the content of extractives in American, French, and East European oak woods. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 8115-8126.
- Puech J.-L., 1987. Extration of phenolic compounds from oak wood in model solutions and evolution of aromatic aldehydes in wines aged in oak barrels. *Am. J. Enol. Vit.*, **38**, 236-238.
- Puech J. L., 1984. Characteristics of oak wood and biochemical aspects of Armagnac aging. *Am. J. Enol. Vit.*, **32**, 111-114.

- Puech J.L., 1992. Influence du bois de chêne sur les caractéristiques analytiques des eaux-de-vie. *Vigne et vin publ. Intern.*, **2**, 123-134.
- Puech J.-L., Jouret C., Goffinet B., 1985. Évolution des composés phénoliques du bois de chêne au cours du vieillissement de l'armagnac. *Sci. Alim.*, **5**, 379-392.
- Puech J.-L., Mosedale J.R.: 1998. Wood maturation of distilled beverages. *Food Sci. Techn.*, **9**, 95-101.
- Puech J.-L., Moutounet M., 1988. Liquid chromatographic determination of scopoletin in hydroalcoholic extract of oakwood and in matured distilled alcoholic beverages. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 512-514.
- Puech J. -L., Sarni F., 1990. Delignification of oak wood with an ethanol-water solution in a flow trough reactor. *Holzforschung*, **44**, 367-371.
- Puech J. L., Mourges J., Mosedale J.R., Léauté R., 1998. Barriques et vieillissement des eaux-de-vie. In: *Oenologie. Fondements scientifiques et technologiques*. Flanzy C. (Ed.) Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Lavoisier Tec& Doc, Paris. **22.2**, 1110-1142.
- Quaresma H.C., 2000. Evolução da composição fenólica de uma aguardente *Lourinhã* ao longo dos primeiros quatro anos de envelhecimento. Estágio de fim de curso, do Curso de Bacharelato em Tecnologia do Vinho, do Instituto Politécnico de Santarém.
- Rabier Ph., Moutounet M., 1991. Évolution d'extractibles de bois de chêne dans une eau-de-vie de vin. Incidence du thermotraitement des barriques. In: *Les eaux de vie traditionnelles d'origine viticole*. 220-230. Bertrand A. (Ed.), Lavoisier - Tec & Doc, Paris.
- Reazin G.H., 1981. Chemical mechanisms of whiskey maturation. *Am. J. Enol. Vit.*, **32**, 283-289.
- Regulamento CE nº110/2008. Comissão de Regulation, *Off. J. Eur. Union*, 2008, **L39**, 16-54.
- Ribéreau-Gayon, P. 1931. Contribution à l'étude des oxidations et réductions dans les vins. 213 Thèse de l' Université de Bordeaux.
- Ribéreau-Gayon, P. 1968. Les composés phenoliques totaux des végétaux. 254pp. Dunod, Paris.
- Ribéreau-Gayon P., 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chim. Anal.*, **52**, 627-631.
- Ribéreau-Gayon P., Peunaud E., Ribereau-Gayon P., Sudraud P., 1976. *Traité d'œnologie. Sciences et techniques du vin*. 719 pp. Dunod, Paris.
- Rosso M., Panighel A., Vedova A., Stella L., Flamini R., 2009. Changes in chemical composition of red wine aged in acacia, cherry, chestnut, mulberry and oak wood barrels. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 1915 – 1920.
- Sanz M., Cadahía E., Esteruelas E., Muñoz A., Simón B., Hernández T., Estrella I., 2010. Use of acacia barrique barrels- influence on the quality of Malvazija from Istria wines. *Food Chemistry*, **120**, 698-702.
- Sarni F., Moutounet M., Puech J.-L., 1991. Composés phenoliques extractibles de copeaux de bois de chêne. In : *Les eaux-de-vie traditionnelles d'origine viticole*, 231-239. Bertrand, A. (Ed.), Lavoisier, TEC&DOC, Paris.
- Sarni F., Moutounet M., Puech J.-L., Rabier Ph., 1990. Effect of heat treatment ok oak wood extractable compounds. *Holzforschung*, **44**, 461-466.
- Sartini E., Arfelli G., Fabiani A., Piva A., 2007. Influence of chips, lees and micro-oxygenation during aging on the phenolic compounds of a red Sangiovese wine. *Food Chemistry*, **104** 1599-1604.
- Scalbert A., Peng S., Monties B., Herve du penhoat C., Gage D., 1990. Isolation and strutral characterization of polyphenols from *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* Lielb. Woods. *Bull. Liason Groupe Polyphenols*, 203-206.

- Scalbert A., Monties B., Janin G., 1989. Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *J. agr. Food. Chem.* **37**, 1324-1329.
- Seikel M., Hostettler F.D., Niemann G.J., 1971. Phenolics of *Quercus rubra* wood. *Phytochem.*, **10**, 2249-2251.
- Simón B., Cadahia E., Conde E., Garcia-Vallejo M. C., 1998. Ellagitannins in woods of spanish oaks. *J. Sci. Tonnellerie*, **4**, 91-97.
- Simón B., Esteruelas E., Muñoz A., Cadahia E., Sanz M., 2009. Volatile compounds in Acacia, Chestnut, Cherry, Ash and oak woods with a view to their use in cooperage. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 3217- 3227.
- Simón B., Muiño I., Cadahia E., 2010. Characterization of volatile constituents in commercial oak wood chips. *J. Agric. Food Chem.*, **58**, 9587-9596.
- Singleton V. L., 1974. Some aspects of wooden container as a factor in wine maturation. Chemistry of wine making. 311 pp. ACS series 137, Webb A. D. (Ed.), ACS Pub. Co, New York.
- Singleton V.L., 1995. Maturation of wines and spirits: comparisons, facts and hypotheses. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 98- 115.
- Spillman P., Pollnitz A., Liacopoulos D., Skouroumounis G., Sefton M., 1997. Accumulation of vanillin during barrel aging of white, red, and model wines. *J. Agr. Food Chem.*, **45**, 2584-2589.
- Soares B., Garcia R., Freitas V., Cabrita M., 2012. Phenolic compounds released from oak, cherry, Chestnut and robinia chips into a syntetic wine: Influence of toasting level. *Ciência Téc. Vitic.*, **17**, 17 – 26.
- Tesfaye W., Morales M., Benítez B., Garcia-Parrilla M.C., Troncoso A.M., 2004. Evolution of wine venegar composition during accelerated aging with oak chips. *Anal. Chim. Acta.*, **513**, 239-245.
- Timberlake C.F., Bridle P., 1976. Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *Am. J. Enol. Vit.*, **27**, 97-105.
- Vivas N., Saint-Cricq De Gaulejac C.N., Doneche B., Glories Y., 1997. Incidence de la durée du séchage naturel de *Quercus petraea* Liebl. et *Quercus robur* L. sur la diversité de la flore fongique en place et sur quelques aspects de son écologie. *J. Sci. Tech. Tonnellerie*, **3**, 17-25.
- Vivas N., Glories Y., 1993. Les phénomènes d'oxydoréduction liés à l'élevage en barrique des vins rouges: aspects technologiques. *Ann. Fals. Exp., Chim.*, **919** 215-222.
- Vivas N., Glories Y., Bourgois G., Pianet T., Vitry C., Barbe B., 1996. Les ellagitannins de bois de Coeur de différentes espèces de chênes (*Quercus* sp.) et de châtaignier (*Castanea sativa* Mill.). Dosage dans les vin rouge élevés en barriques. *J. Sci. Tonnellerie*, **2**, 25 – 49.
- Viriot C., Scalbert A. Herve du Penhoat C.L. M., Moutounet M., 1994. Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels. *J. Agr. Food Chem.*, **41**, 1872-1879.
- Viriot C., Scalbert A., Lapierre C., Moutounet M., 1993. Ellagitannins and lignins in aging of spirits in oak barrels. *J.Agric. Food Chem.*, **41**, 1872-1879.
- Williams, P. J.; Strauss, C. R. 1975. 3,3-Diethoxybutan-2-one and 1,1,3- triethoxypropane: Acetals in spirits distilled from *Vitis Vinifera* grape wines. *J. Sci. Food Agric.*, **26**, 1127-1136.

VI. Divulgação do conhecimento do presente trabalho

Publicação:

Cruz, S., Canas S., Belchior A.P., 2012. Effect of ageing system and time on the quality of wine brandy aged at industrial-scale. *Ciência Tec. Vitic*, **27**, 83-93.

Apresentação oral:

Cruz, S. 2012. Envelhecimento de aguardente vínica em sistemas alternativos à escala industrial. Colóquio 49, Dois Portos, Portugal, Novembro 2012.

ANEXO 1

Quadro A.1. Parâmetros relativos à linearidade das curvas de calibração e aos limiares analíticos

Gama de trabalho (mg. dm ⁻³)		a	b	p	LD	LQ
HMF	0 - 20	-2599.82	41803.30	0.99992	0.25	0.84
furf	0 - 50	1027.35	108976.37	0.99987	0.04	0.14
5mfurf	0 - 10	432.79	127252.77	0.99989	0.07	0.25
gal	0 - 250	3643.84	24608.15	0.99998	1.15	3.84
van	0 - 20	-1162.75	30473.86	0.99960	0.30	1.01
sg	0 - 20	66813.93	74183.23	0.99990	0.15	0.49
elag	0 - 200	-68712.70	99226.26	0.99981	1.04	3.47
vanil	0 - 20	737.04	41570.97	0.99982	0.04	0.15
sgald	0 - 20	-811.98	51318.93	0.99980	0.03	0.09
cfald	0 - 40	61.55	80458.12	0.99978	0.01	0.03
snald	0 - 40	2617.36	51848.93	0.99975	0.02	0.05

a - ordenada na origem; b - declive; p – coeficiente de correlação; LD - limiar de deteção; LQ - limiar de quantificação.

ANEXO 2

INIAV-SERVIÇO DE PROVA ORGANOLÉPTICA - Ficha de avaliação de aguardentes 2012

Provedor _____ Data ____/____/____

	AMOSTRAS							
CARACTERÍSTICAS (Nota de 0 a 5)								
COR								
Citrino								
Palha								
Dourado								
Topázio								
Esverdeado								
AROMA								
Álcool								
Frutado.								
Vanilina/baunilha								
Madeira								
Ranço (bom)								
Especiarias								
Caramelo								
Queimado/Torrado								
Frutos secos								
Fumo/Cinzas								
Café								
Adocicado								
Herbáceo								
Caudas								
Acetato Etilo/Cola/Verniz								
Borracha								
OUTROS								
SABOR								
Doce								
Macio								
Queimante								
Adstringência								
Aspereza								
Amargo								
Corpo								
Untuosidade								
Evolução								
Complexidade								
Aroma de boca								
Persistência								
OUTROS								
APRECIÇÕES (Nota 1 a 20)								
Aroma								
Sabor								
Geral								
Observações:								

Figura A.1: Ficha de prova para aguardentes

ANEXO 3

Quadro A.2. Correlações entre parâmetros analíticos das aguardentes vînicas com nível de significância P=0.05.

	ES	IPT	L	a	b	C	OD	A470	gal	HMF	Furf	Van	Mfurf	Sg	Vanil	Sgald	Cnald	Snald	Elag	TAV	AT	AF	AV	pH
ES	1																							
IPT	0.98	1																						
L	-0.61	-0.69	1																					
a	0.49	0.51	-0.79	1																				
b	0.92	0.94	-0.84	0.73	1																			
C	0.91	0.94	-0.84	0.73	1.00	1																		
OD	-0.59	-0.65	0.10	0.21	-0.37	-0.37	1																	
A470	0.81	0.85	-0.95	0.81	0.97	0.97	-0.23	1																
Gal	0.85	0.82	-0.23	0.04	0.59	0.59	-0.83	0.44	1															
HMF	0.78	0.76	-0.14	-0.06	0.50	0.50	-0.89	0.35	0.98	1														
Furf	0.94	0.97	-0.74	0.56	0.93	0.93	-0.61	0.87	0.77	0.71	1													
Van	0.96	0.95	-0.70	0.65	0.93	0.93	-0.44	0.87	0.75	0.65	0.93	1												
Mfurf	0.98	0.96	-0.62	0.44	0.88	0.88	-0.59	0.80	0.87	0.78	0.91	0.95	1											
Sg	0.74	0.74	-0.13	-0.02	0.48	0.48	-0.90	0.32	0.94	0.97	0.69	0.63	0.72	1										
Vanil	0.97	0.98	-0.72	0.55	0.94	0.94	-0.53	0.87	0.79	0.69	0.95	0.98	0.97	0.65	1									
Sgald	0.89	0.91	-0.85	0.76	0.99	0.99	-0.28	0.97	0.55	0.44	0.89	0.93	0.88	0.40	0.93	1								
Cnald	0.95	0.96	-0.52	0.32	0.81	0.81	-0.78	0.70	0.94	0.90	0.93	0.89	0.95	0.88	0.92	0.77	1							
Snald	0.95	0.96	-0.52	0.32	0.81	0.81	-0.78	0.70	0.94	0.90	0.93	0.89	0.95	0.88	0.92	0.77	1.00	1						
Elag	0.99	0.96	-0.63	0.56	0.93	0.93	-0.50	0.83	0.80	0.72	0.92	0.97	0.97	0.68	0.96	0.92	0.91	0.91	1					
TAV	0.12	0.25	-0.14	-0.04	0.14	0.14	-0.54	0.11	0.17	0.25	0.21	0.07	0.11	0.35	0.13	0.08	0.28	0.28	0.07	1				
AT	0.89	0.89	-0.35	0.10	0.69	0.69	-0.86	0.54	0.97	0.96	0.83	0.77	0.89	0.93	0.83	0.63	0.97	0.97	0.84	0.28	1			
AF	0.87	0.85	-0.42	0.44	0.75	0.75	-0.61	0.63	0.81	0.79	0.84	0.83	0.81	0.82	0.80	0.70	0.89	0.89	0.84	0.16	0.83	1		
AV	0.85	0.85	-0.31	0.00	0.64	0.64	-0.87	0.49	0.96	0.95	0.79	0.72	0.86	0.90	0.80	0.58	0.93	0.93	0.79	0.27	0.99	0.74	1	
pH	-0.91	-0.92	0.66	-0.43	-0.86	-0.86	0.57	-0.80	-0.78	-0.73	-0.93	-0.86	-0.88	-0.69	-0.90	-0.82	-0.90	-0.90	-0.89	-0.06	-0.85	-0.83	-0.81	1

ANEXO 4

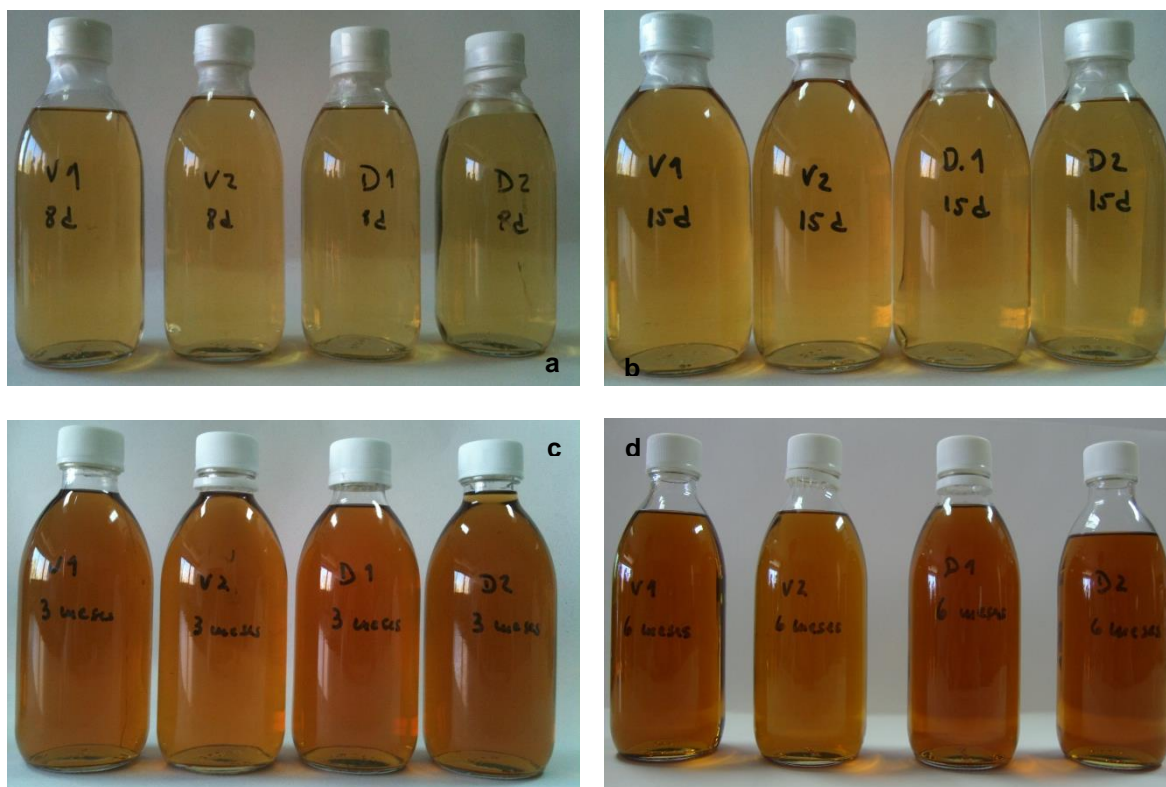


Figura A. 2. Características cromáticas das aguardentes envelhecidas em vasilhas (V) e em depósitos (D) nas quatro amostragens realizadas: a – 8 dias; b – 15 dias; c – 90 dias; d – 180 dias.

Anexo 5

Tratamento térmico

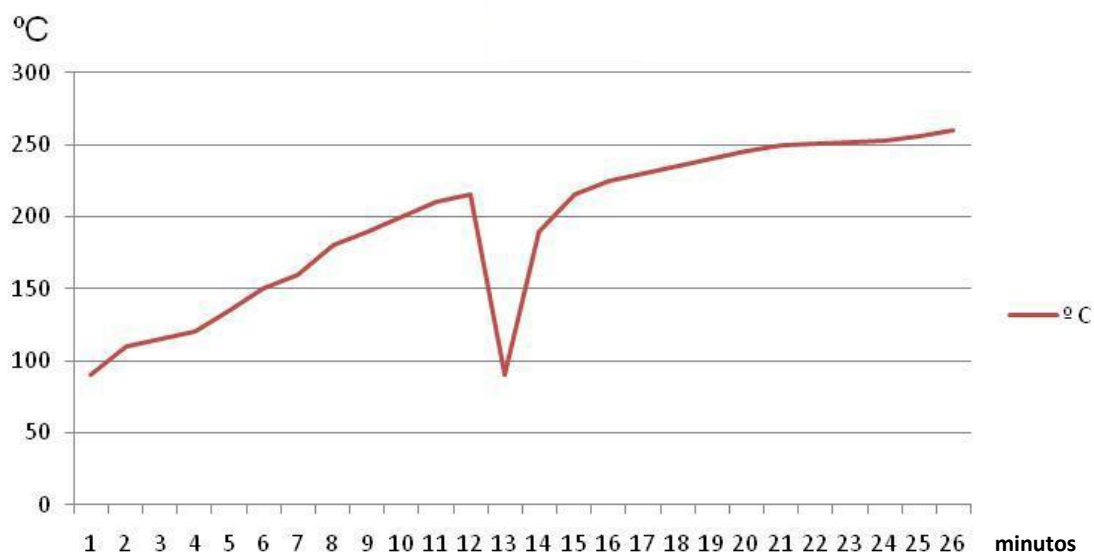


Figura A.3. Tratamento térmico de uma vasilha de 650 dm⁻³ equivalente ao tipo de queima média +

Aduelas para depósitos de aço inoxidável

Quadro A.3. Tratamento térmico para aduelas

Tipo de Queima: Média +
Tempo: 90minutos
Temperatura média: 240 °C

Anexo 6

Quadro A.4. Coeficientes de correlação de cada provador.

Provador	Coeficiente de correlação	Nível de significância
E	0.94	*
G	0.84	*
Q	0.98	*
R	0.88	*
W	0.79	*
Y	0.82	*
AA	0.53	*
AB	0.72	*
AC	0.86	*
AD	0.36	*
AE	0.87	*
AF	0.78	*
AG	0.47	*

Anexo 7

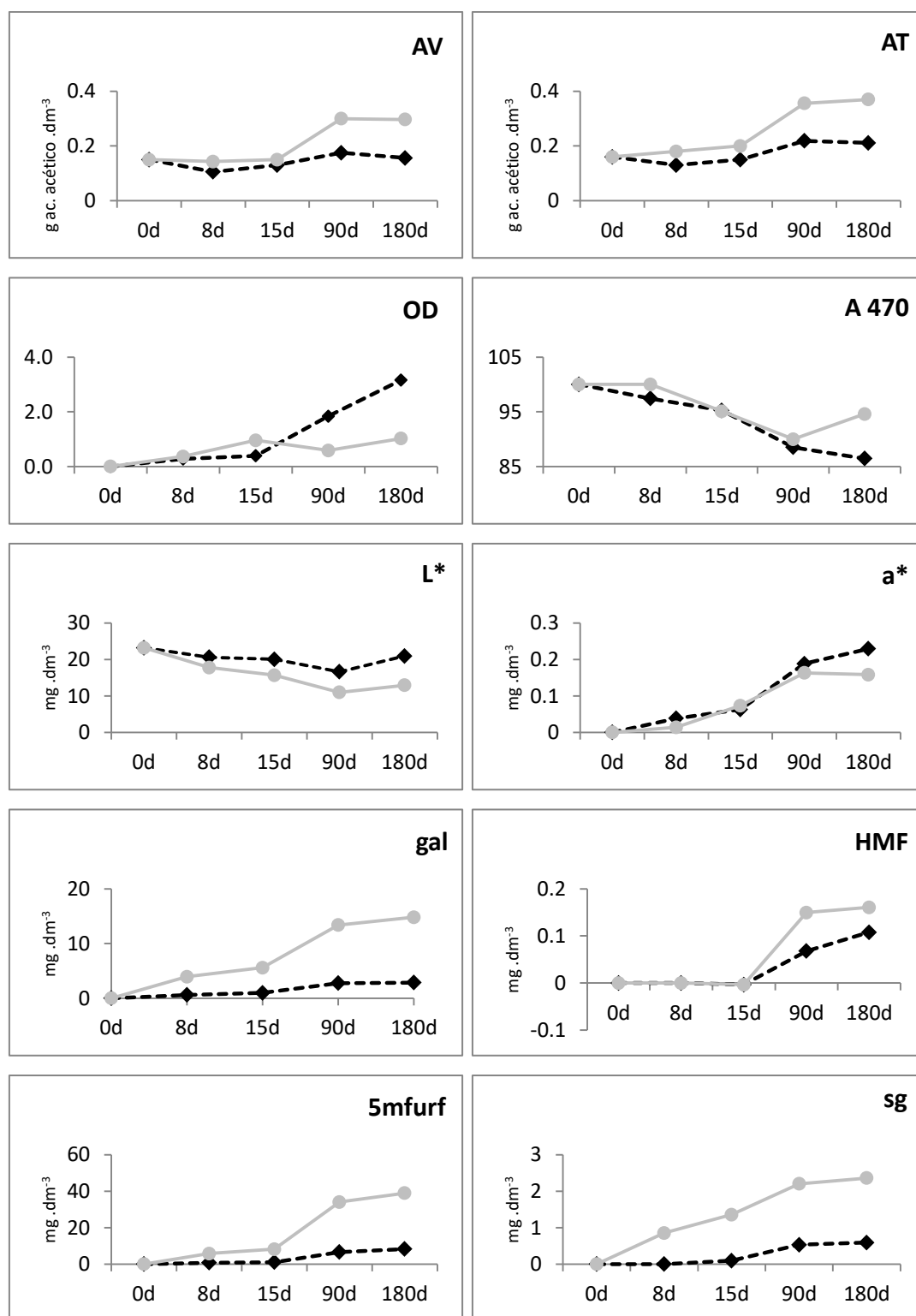


Figura A.5. Interação entre sistema de envelhecimento e tempo para: AV - acidez volátil; AT - acidez total; OD - oxigênio dissolvido; A 470 – absorvência a 470 nm; L* - luminosidade; a* - coordenada a*; gal - ácido gállico; HMF – 5-hidroximetilfurfural; 5mfurf – 5-metilfurfural; sg - ácido siringico. ●—Vasilhas; ◆—Depósitos.

EFFECT OF AGEING SYSTEM AND TIME ON THE QUALITY OF WINE BRANDY AGED AT INDUSTRIAL-SCALE

EFEITO DO SISTEMA DE ENVELHECIMENTO E DO TEMPO NA QUALIDADE DA AGUARDENTE VÍNICA ENVELHECIDA À ESCALA INDUSTRIAL

Sara Cruz, Sara Canas*, A. Pedro Belchior

INIAV - Dois Portos, Quinta d'Almoinha, 2565-191 Dois Portos, Portugal

*Corresponding author: Tel.: +351 261 712 106; Fax: +351 261 712 426, e-mail: sara.canas@iniav.pt

(Manuscrito recebido em 15.11.2012. Aceite para publicação em 07.01.2013)

SUMMARY

During the first six months of ageing it was performed the analysis of dissolved oxygen, dry extract, total polyphenol index, chromatic characteristics and low molecular weight compounds of Lourinhã brandies aged in different systems: 650 L wooden barrels (traditional system) and stainless steel tanks of 3000 L with wood staves (alternative system). In each system two kinds of wood were used simultaneously and arranged alternately: Portuguese chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and Limousin French oak (*Quercus robur* L.) with medium plus toasting level. The quantity of staves was calculated in order to reproduce the surface/volume ratio of a 650 L wooden barrel. The results obtained show that the ageing system has a very significant effect on the chemical composition and colour of the aged brandies. The alternative system promotes further evolution of colour and lower oxygen consumption, while the traditional system yields higher dry extract, total phenolic and low molecular weight compounds contents. These outcomes, which have been proven by an essay based on the dry extract method, indicate that the changes observed in the brandy during the ageing process are closely related to the ageing system, suggesting that the constituents and the phenomena that occur in each one are different. Regarding the ageing time, there is a highly significant effect on the characteristics of the aged brandies, even though the observations are made in a short period of time (minimum requested by the European legislation for the ageing of the wine brandy), with higher extraction of the wood compounds up to 90 days.

RESUMO

Durante os primeiros seis meses de envelhecimento, procedeu-se à análise do oxigénio dissolvido, extracto seco, índice de polifenóis totais, características cromáticas e compostos de massa molecular baixa de aguardentes vínicas Lourinhã envelhecidas em diferentes sistemas: vasilhas de madeira de 650 L (sistema tradicional) e depósitos de aço inoxidável de 3000 L com aduelas de madeira (sistema alternativo). Em cada sistema foram utilizadas duas madeiras em simultâneo e dispostas alternadamente: castanheiro português (*Castanea sativa* Mill.) e carvalho francês Limousin (*Quercus robur* L.) com queima média mais. A quantidade de aduelas foi calculada de modo a reproduzir a relação superfície/volume de uma vasilha de 650 L. Os resultados obtidos revelam que a forma da madeira exerce um efeito muito significativo na composição química e na cor das aguardentes envelhecidas. O sistema alternativo promove maior evolução da cor e menor consumo de oxigénio, enquanto o sistema tradicional origina maior extracto seco, bem como maior teor de polifenóis totais e de compostos de massa molecular baixa. Estes resultados, comprovados através de um ensaio baseado no método de determinação do extracto seco, indicam que as modificações observadas na aguardente durante o processo de envelhecimento se encontram estreitamente relacionadas com o sistema de envelhecimento, sugerindo que os constituintes e os fenómenos que ocorrem em cada um são diferentes. Relativamente ao tempo de envelhecimento, existe um efeito altamente significativo nas características das aguardentes envelhecidas, mesmo num período curto de tempo (o mínimo requerido pela legislação europeia para o envelhecimento de aguardente vínica), verificando-se maior extracção dos compostos da madeira até aos 90 dias.

Key words: aged wine brandy, ageing system, ageing time, physicochemical characteristics, low molecular weight compounds.

Palavras-chave: aguardente vínica envelhecida, sistema de envelhecimento, tempo de envelhecimento, características físico-químicas, compostos de massa molecular baixa.

INTRODUCTION

The quality of the aged wine brandy is determined by the distillate characteristics and the transformations that occur during the ageing process (Puech *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 1999; Canas *et al.*, 2000a; Belchior *et al.*, 2001; Canas *et al.*, 2002; Belchior *et al.*, 2003; Patrício *et al.*, 2005; Caldeira *et al.*, 2006). According to the Regulation CE No 110/2008, six months is the minimum period of ageing in wooden barrels without which the wine brandy cannot be sold for consumption.

During the ageing process in wooden barrels, complex changes such as reactions between distillate compounds, reactions among extractable wood compounds, impregnation of brandy in the wood, as well as release of extractable compounds from the wood

into the brandy (Puech, 1984; Singleton, 1995; Canas *et al.*, 2002) that occur in the presence of oxygen (Belchior and San-Romão, 1982; Moutounet *et al.*, 1998), along with the evaporation and concentration phenomena (Puech *et al.*, 1998; Canas *et al.*, 2002; Patrício *et al.*, 2005). These transformations are influenced by the wood chemical composition, which is mainly dependent on the botanical species (Fengel and Wegener, 1989; Mosedale, 1995; Canas *et al.*, 1999; Canas *et al.*, 2000a; Jordão *et al.*, 2005; Prida and Puech, 2006), the geographical origin (Canas *et al.*, 2000b; Doussout *et al.*, 2002), the seasoning and the heat treatment during barrel making (Sarni *et al.*, 1990; Belchior *et al.*, 2001; Canas *et al.*, 2007), the barrel size (Belchior *et al.*, 2005; Canas *et al.*, 2008), as well as the cellar environment (Mosedale, 1995; Singleton, 1995).

The oak species that stand out are: *Quercus robur* L., predominantly from the Limousin region (France), *Quercus sessiliflora* Salisb., especially from the Allier region (France) and *Quercus alba* L. (USA). However, the research that has been performed on chestnut wood (*Castanea sativa* Mill.) proved its suitability for this purpose (Canas *et al.*, 1999; Canas *et al.*, 2000a; Belchior *et al.*, 2001; Caldeira *et al.*, 2006; Canas *et al.*, 2011).

Nevertheless, the need to optimize and reduce the costs of the brandy's ageing in the traditional system in wooden barrels, such as the invested capital in brandy and wooden barrels for a long period, and the sustainable utilization of wood, encourage the search for alternative ageing systems.

Several studies were conducted using alternative systems for the ageing of wine (Araptisas *et al.*, 2004; Eiriz, 2007; Nevares and Del Álamo., 2008; Nevares *et al.*, 2009; Del Álamo *et al.*, 2010; Cabrita *et al.*, 2011), as well as for the ageing of its derivatives: vinegar (Morales *et al.*, 2004; Tesfaye *et al.*, 2004) and wine brandy (Belchior *et al.*, 2003; Madrera *et al.*, 2003; Canas *et al.*, 2009a,b; Caldeira *et al.*, 2010). Alternative systems for ageing other drinks such as cider, rum, whiskey and sake have also been target of research (Martinez *et al.*, 2001; Chang., 2004; Fan *et al.*, 2006). It was showed that the quality of the final product in alternative ageing systems depends on the shape and size of the wood used, the dosage, the heat treatment and the botanical species, since these factors influence the kinetics of extraction/oxidation and diffusion of the wood extractable compounds (Afonso., 2002, Fan *et al.*, 2006), along with the contact time between the wood and wine, and the possibility of using micro-oxygenation (Piracci *et al.*, 2001). In the attempt to simulate similar conditions to those of the wooden barrels using stainless steel tanks, promising results were obtained in red wine namely the colour stabilization, and the decrease of astringency and herbaceous notes (Kelly Wollan and, 2003).

In this context, Belchior *et al.* (2003) performed a first approach, at laboratorial-scale, of Lourinhã wine brandy ageing with small logs and chips of Limousin oak and chestnut wood. Recently, in a project on a pilot scale, studies were conducted to evaluate the effects of different ageing systems – wooden barrels, staves and tablets with equal surface/volume ratio – along with the botanical species (Limousin oak and chestnut) and oxygenation, in the physicochemical characteristics and sensory properties of a Lourinhã brandy over two years and a half of ageing (Canas *et al.*, 2009a,b; Caldeira *et al.*, 2010). The results showed that alternative systems seem to accelerate the ageing process and originate wine brandy with different physicochemical characteristics and sensory properties. Moreover, the close relationship found between the ageing systems and the characteristics of wine brandies led to conclude that many constituents

and phenomena governed by several ageing factors should be involved. It was also verified that chestnut wood has great interest to brandy ageing, whatever the ageing system. These results indicate that modifications observed in the brandies are closely related to the kind of ageing system.

The present work aims to deepen the technical and scientific knowledge about the two kinds of ageing systems in order to obtain reliable results on their potential for the ageing of wine brandy, based on the evaluation of dry extract, total phenolic content, chromatic characteristics, low molecular weight compounds and dissolved oxygen of a Lourinhã brandy aged in 650 L wooden barrels and in stainless steel tanks of 3000 L with wood staves.

MATERIAL AND METHODS

Experimental design and brandy sampling

The same Lourinhã wine distillate (77.2 % v/v) was aged in two different ageing systems: 650 L new barrels and 3000 L stainless steel tanks with wood staves, in duplicate. In each system two different kinds of wood were used simultaneously and arranged alternately: Portuguese chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and Limousin oak (*Quercus robur* L.). The barrels and the wood staves were manufactured by J. M. Gonçalves cooperage (Palaçoulo, Portugal) with medium plus toasting level. The barrels were heated over a fire of wood offcuts and the staves were heated in an oven. The quantity of staves (91 cm length x 5 cm width x 1.8 cm thickness) was calculated in order to reproduce the surface area to volume ratio of a 650 L barrel. The wooden barrels and the stainless steel tanks were placed at Adega Cooperativa de Lourinhã in similar cellar conditions. The brandies were sampled and analysed after 8, 15, 90 and 180 days of ageing; a total of 16 samples were taken.

Determination of dry extract

The dry extract of brandies was analyzed according to the usual method of OIV (OIV, 1994).

Determination of total polyphenol index

The total phenolic content of the brandies was determined by the absorbance at 280 nm (Ribéreau-Gayon, 1970). Brandies were diluted with ethanol/water 75:25.

Determination of chromatic characteristics

The chromatic characteristics (CIELab) were determined with a Varian Cary 100 Bio spectrophotometer (Palo Alto, USA) and a 10 mm glass cell, by measuring the transmittance of the brandy every 10 nm from 380 to 770 nm, using a D65 illuminant and a 10° standard observer. The parameters measured were: lightness (L*); saturation (C*); chromaticity coordinates (a* and b*). Coordinate a* takes positive values for reddish colours and negative values for greenish

ones, whereas coordinate b^* takes positive values for yellowish colours and negative values for bluish ones. In addition, the brown colour of the brandies was measured by the absorbance at 470 nm (Martins and Van Boekel, 2003), which was calculated from the value of transmittance at 470 nm provided by CIELab output.

Analysis of low molecular weight phenolic compounds and furanic derivatives by High Performance Liquid Chromatography

Samples of brandies were added with an internal standard (4-hydroxybenzaldehyde, 20 mg/L), filtered through 0.45 μm membrane (Titan) and analysed by direct injection of 20 μL . Chromatography was performed as described by Canas *et al.* (2003), with a HPLC Lachrom Merck Hitachi system equipped with a quaternary pump L-7100, a column oven L-7350, a UV-Vis detector L-7400, and an autosampler L-7250, coupled to a HSM D-7000 software (Merck) management, acquisition and treatment data. The identification of chromatographic peaks was made both by retention time and UV-Vis spectra matching with standards. The chromatographic purity of the peaks and the UV-Vis spectra (200–400 nm) were performed using a Waters system equipped with a photodiode-array detector (Waters 996), with the same chromatographic conditions, managed by “Millennium 2010” software (Waters, Milford, USA).

Determination of dissolved oxygen

Dissolved oxygen in brandies was determined with an Oximeter Oxi 340-b (WTW, Weilheim, Germany). Corrections for the temperature, dry extract and alcohol content of the brandies were made according to Mourges *et al.* (1973).

Statistical analysis

The two-way analysis of variance (ANOVA) was performed to evaluate the effects of ageing system and ageing time on the characteristics of the aged brandies, as well as on the essay based on the dry extract method. Fisher’s least significant difference (LSD) test was applied to compare the different averages. All the calculations were carried out using Statistica vs ’98 edition (Statsoft Inc., Tulsa, USA). The correlation analysis was performed using Statgraphic v.5 (STSC Inc., Rockville, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of the ageing system

The ageing system has a highly significant effect on the dry extract, total polyphenol index, luminosity and dissolved oxygen of the aged brandies (Table I), and a significant effect on the coordinate a^* . The absorbance at 470 nm that is a reliable indicator of the melanoidins content (Martins and Van Boeckel, 2003) is very significantly influenced by this factor.

Brandies aged in wooden barrels present higher dry extract and higher total polyphenol index, but lower colour intensity (inversely proportional to luminosity), lower red hue (a^*) and brown hue (A_{470}) than those aged in stainless steel tanks with wood staves. Therefore, the greatest enrichment of the chemical composition of the brandies does not correspond to a greater colour evolution, contradicting the results obtained in several essays performed on the ageing of brandies in the traditional system (Canas *et al.* 2000a; Belchior *et al.* 2001; Canas, 2003).

During ageing the brandy is enriched in wood extractable compounds, which contribute to its dry extract. The contents of such compounds depend both on the wood botanical species and the heat treatment of the barrel (Câmpeanu *et al.*, 1992). The heat treatment of the wood used in the two ageing systems is theoretically the same, although it has a greater effect on the extraction of compounds from the barrels than from the staves. This variability should be partially attributed to the different kind of heat processes applied together with the wood shape.

Concerning the total phenolic content, given that the distillate has no phenolic compounds (Canas, 2003) the difference found can be due to the influence of the ageing system. The highest total polyphenol index of brandies aged in wooden barrels may be related to the higher extraction/diffusion rate of phenolic compounds.

According to Belchior and San-Romão (1982), the extraction of compounds from wood already involves some oxidation, therefore the lowest dissolved oxygen content (corresponding to higher consumption) and the highest content of phenolics detected in the brandies aged in wooden barrels seem to be linked.

It should be noted that the values of dry extract and total polyphenol index show high correlation ($r=0.98$), which is in agreement with the results obtained by Canas *et al.* (2009b).

As for the chromatic characteristics, there is a faster evolution of colour in the brandies aged in stainless steel tanks, shown by greater colour intensity and red hue. Although not significant, saturation and yellow hue behave similarly. It is verified that the colour of the brandy aged in tanks results from a more intense red-yellow combination.

Belchior and Carvalho (1983) found a direct relationship between the total phenolic content and the colour of the aged brandy, and Bakker *et al.* (1986) report that the luminosity is inversely related to the content of phenolic compounds. Similar results were obtained in brandies aged in wooden barrels (Canas *et al.*, 2000a; Belchior *et al.*, 2001; Canas, 2003). In the present study, the correlations between the total polyphenol index and the chromatic characteristics, namely the brightness ($r=-0.69$) and the coordinate a^* ($r=0.51$), are in accordance with the results obtained

TABLE I
Ageing system effect on the chemical composition and chromatic characteristics of the wine aged brandies
Efeito do sistema de envelhecimento na composição química e nas características cromáticas das aguardentes vínicas envelhecidas

	Effect	Wood shape	
		Staves	Barrels
DE	***	0.37 ± 0.24 a	0.53 ± 0.33 b
TPI	***	11.57 ± 6.29 a	15.13 ± 7.25 b
L*	***	91.91 ± 4.88 a	94.91 ± 3.87 b
C*	ns	29.43 ± 18.61	28.77 ± 15.03
a*	*	1.41 ± 1.26 b	0.73 ± 0.57 a
b*	ns	29.39 ± 18.57	28.76 ± 15.03
A 470	**	0.13 ± 0.09 b	0.10 ± 0.07 a
DO	***	19.53 ± 2.11 b	14.35 ± 2.77 a

x ± SD (average ± standard deviation) of 16 values; Mean values in the same row with different letters are significant (*P=95%), very significant (**P=99%) or highly significant different (***P=99.9%); ns – not significant; DE – dry extract (g/L); TPI – total polyphenol index; L* - lightness; C* - saturation; a* and b* - chromaticity coordinates; A 470 – absorbance at 470 nm; DO – dissolved oxygen (mg/L).

in the mentioned works. Therefore, the lowest total phenolic content and lightness of the brandies aged in stainless steel tanks with staves may arise from unknown reactions that can be associated with the use of two different wood species simultaneously and/or the presence of non-phenolic compounds, which have a great influence on colour, as observed by Canas *et al.* (2009b). On the other hand, the heat treatment can also be responsible for the observed effect, once the kind of heat intensity and the staves dimension can promote higher degradation of phenolic compounds (Sarni *et al.*, 1990; Rabier and Moutounet, 1991; Canas *et al.* 2000c; Canas *et al.*, 2007), as well as a more intense alteration of the wood structure (Hale *et al.*, 1999). In addition, the Maillard reactions occurring during the heat treatment origin many volatile (Cutzach *et al.*, 1997) and non-volatile compounds (Alañón *et al.*, 2010) in the wood. Avakians (1992) indicated that these reactions have great influence on the colour of the aged brandy. It is also known that among the non-volatile compounds resulting from the Maillard reactions, there are some key-chromophores (compounds with high impact on colour) which cause the yellow, red and brown hues (Hofmann., 1998; Gokmen and Senyuva., 2006). The melanoidins belong to this group of chromophores and are closely related to the brown colour in foods (Gokmen and Senyuva., 2006). In the case of wood, melanoidins are formed during the heat treatment (Borrelli *et al.*, 2002).

It is important to point out that the relationship between the chemical composition and the colour of the brandy is different from that observed in red wines aged in different systems (Del Álamo *et al.*, 2008, De Beer *et al.*, 2009). This suggests that other compounds not quantified in the dry extract and in the total polyphenol index determine the colour of brandies. Addict

to these factors, the acetaldehyde resulting from the oxidation of ethanol during ageing (Reazin, 1981; Nishimura *et al.*, 1983), as well as some phenolic aldehydes such as vanillin (Es-Safi *et al.*, 2000) and furanic aldehydes such as 5-hydroxymethylfurfural and 5-methylfurfural (Es-Safi *et al.*, 2000) may also act in condensation reactions between phenolic compounds present in the brandy, particularly tannins, and influence the chromatic characteristics.

Comparing the absorbance at 470 nm of the brandies from the two ageing systems, there is a higher concentration of melanoidins in the brandies aged in stainless steel tanks with staves than in those aged in wooden barrels. Thus, the results of this study are in accordance with the hypothesis raised by Canas *et al.* (2009b), who consider melanoidins as another type of colouring compounds formed by the Maillard reactions, which are also present in toasted wood and are likely to be released into the brandy during the ageing process. On this basis, the highest intensity of toasting (Gokmen and Senyuva., 2006) may have favoured the formation and accumulation of these compounds in the corresponding staves and brandy, whose concentration did not affect the dry extract but considerably contributed to the colour.

Moreover, oxygen is a key element in the chemical changes of brandy during ageing (Avakians, 1992; Puech and Mosedale, 1998), and it is analyzed in order to obtain more information on the phenomena involved in the evolution of the brandy's composition during this process. Since there is a continuous and slow diffusion of oxygen through the bung and the wood in the barrels (Moutounet *et al.*, 1998; Kelly and Wollan, 2003), which does not occur in stainless steel tanks during ageing, the lowest level of dissolved oxygen found in the brandies aged in wooden barrels seems to indicate a high consump-

tion in this situation (Nevares and Del Álamo., 2008; Canas *et al.*, 2009a,b). Despite the surface/volume ratio was equal and the same botanical species were used in both systems, the differences observed in the brandies are possibly related with the extraction rate of compounds from the wood and their subsequent transformation in the brandy. Such transformation is associated with the reactions that occur during ageing - oxidations, esterifications, Maillard reactions, polymerizations and polycondensations. Puech and Mosedale (1998) state that oxidation is the most important, involving both the compounds of the distillate and from the wood. The oxidation may be specific to each ageing system and have contributed to the differentiation of brandies.

Concerning the low molecular weight compounds, the results of the analysis of variance (Table II) show a highly significant effect on the contents of 5-hydroxymethylfurfural, gallic acid, coniferaldehyde and sinapaldehyde, a very significant effect on the contents of ellagic acid and furfural, and a significant effect for syringaldehyde and the total content of compounds analysed. It should be noted that the total content of compounds is higher in brandies aged in wooden barrels, which can be distinguished particularly by the content of 5-hydroxymethylfurfural, gallic acid, coniferaldehyde and sinapaldehyde.

The contents of furanic aldehydes are higher in the brandies aged in barrels than in those aged in stainless steel tanks with staves (Table II). The furfural is quantitatively the most important compound of the aged brandies in both systems, not only due to its presence in the distillate (Jeuring and Kuppers, 1980; Canas *et al.*, 2004; Caldeira *et al.*, 2010), but also because it exhibits the highest extraction/diffusion rate in the aged brandy (Canas *et al.*, 2004; Patrício *et al.*, 2005). Moreover, furfural results from the degradation of hemicelluloses of the wood during the heat treatment. These polymers are those with lower thermal resistance (Fengel and Wegener, 1989) and hence are preferentially degraded, contributing to make furfural the main furanic derivative of the toasted wood (Rabier and Moutounet, 1991; Chatonnet, 1995; Canas *et al.*, 2007) and of the corresponding brandies (Canas, 2003).

It is found that the content of phenolic acids is higher in brandies aged in wooden barrels (Table II). For gallic acid, the great difference between the ageing systems probably derives from the kind of heat treatment performed owing to the thermal sensitivity of this compound (Rabier and Moutounet, 1991; Canas *et al.*, 2000c, 2007), which content usually tends to decrease from medium toast. Given that the melting point of the gallic acid is 249.9 °C, that is similar to

TABLE II
Content of low molecular weight compounds in wine brandies aged in wooden barrels and in stainless steel tanks with staves (mg/L)
Teores de compostos de massa molecular baixa das aguardentes vínicas envelhecidas em vasilhas de madeira e em depósitos de inoxidável com aduelas (mg/L)

	Effect	Wood Shape	
		Staves	Barrels
HMF	***	1.80 ± 1.09 a	9.42 ± 5.19 b
furf	*	29.26 ± 7.04 a	32.44 ± 7.33 b
5mfurf	--	nd	(0.08 ± 0.09) b
gall	***	4.17 ± 3.55 a	21.74 ± 16.44 b
van	ns	(0.92 ± 0.83)	1.17 ± 0.95
syr	***	(0.30 ± 0.28) a	1.69 ± 0.68 b
ellag	**	3.09 ± 1.96 a	3.97 ± 2.45 b
vanil	ns	0.83 ± 0.57	1.01 ± 0.79
syrde	*	3.31 ± 2.22 b	2.85 ± 1.91 a
cofde	***	3.62 ± 2.36 a	6.81 ± 3.60 b
sypde	***	5.57 ± 3.66 a	10.51 ± 5.59 b
Total	*	52.92 ± 5.24 a	91.69 ± 8.30 b

x ± SD (average ± standard deviation) of 16 values; Mean values in the same row with different letters are significant (*P=95%), very significant (**P=99%) or highly significant different (***P=99.9%); ns – not significant; nd – not detected; () value below limit of quantification; HMF – 5-hydroxymethylfurfural; furf – furfural; 5mfurf – 5-methylfurfural; gall – gallic acid; van – vanillic acid; syr – syringic acid; ellag – ellagic acid; vanil – vanillin; syrde – syringaldehyde; cofde – coniferaldehyde; sypde – synapaldehyde.

the toasting temperature that the wood used in both ageing systems underwent, the results obtained suggest that the wood from barrels suffered the greatest accumulation of gallic acid. Indeed, since the surface/volume ratio is the same in both systems and therefore did not promote differences in the extraction process, the lowest content of gallic acid in the brandies aged in stainless steel tanks may be associated with a more intense degradation of this compound during the toasting of the staves due to their smaller thickness. The ellagic acid proceeds from the degradation of ellagitannins (Chatonnet, 1995). The high melting point of this acid (around 450 °C) allowing to its accumulation in the wood in the free form that can be release into the wine brandy during ageing.

Regarding the phenolic aldehydes, despite the observed variability in the brandies aged in each system, there is a higher concentration in those aged in wooden barrels, except for syringaldehyde (Table II). This fact may be related to the type of chemical reactions that occur in each system and the probability of triggering differently. However, syringaldehyde and vanillin have a complex profile extraction and may result from: i) very intense toasting; ii) more pronounced oxidative process in the wood and/or brandies, according to Puech (1984).

To better understand the results of this study, such as the fact that the brandies aged in wooden barrels present higher dry extract and higher total polyphenol index but less evolved chromatic characteristics than the brandies aged in stainless steel tanks with staves, it was performed an essay based on the dry extract method (OIV, 1994). For this purpose, it was used samples of the brandy with 90 and 180 days of ageing in one wooden barrel and in one stainless steel tank (four modalities), with three replications. In each modality the comparison was made between an aliquot of control brandy (C) with an aliquot of the same brandy subjected to the dry extract method and redissolved with an hydroalcoholic solution having the same pH and alcohol content of the control brandy (ES), in order to obtain relevant information about the possible modification of brandy's compounds during the application of the method and its impact on the total polyphenol index and the chromatic characteristics.

The temperature of 100 °C (method conditions) does not affect significantly the majority of the extractable compounds of the brandy (Table III), although it is registered a highly significant decrease of furfural in the brandies aged in both systems, a significant increase in syringic acid in the brandies aged in stainless steel tanks with staves and a highly significant decrease of syringic acid in the brandies aged in wooden barrels (Table III). Since the furanic aldehydes are quantified in the dry extract but also in the total polyphenol index (Canas and Belchior, 2012), the detected alteration implies that the concentration of volatile compounds in the free form (more suscep-

tible to evaporation, oxidation and/or involvement in other chemical reactions) decreases and thus leads to a decrease of its contribution to the total polyphenol index. Regarding the phenolic acids, their behaviour can be justified by oxidation and/or degradation during the essay, and appears to contribute to the decrease of the total polyphenol index. The difference of these acids behaviour in the hydroalcoholic solutions corresponding to each ageing system after applying the dry extract method, points out once again that the chemical reactions are likely specific in each ageing system. The concentration of phenolic aldehydes is lower in the hydroalcoholic solution than in the brandy after applying the dry extract method, except for sinapaldehyde. This outcome contributes to the decrease in total polyphenol index. The decrease of the content of vanillin results from its evaporation, as well as from some degradation phenomena, such as oxidation, that also affect the decrease of concentration of syringaldehyde and coniferaldehyde.

The results also demonstrate that the total polyphenol index is consistent with that obtained previously (Table I), being higher in the brandies aged in wooden barrels. After applying the dry extract method, it is verified that the total polyphenol index decreased, in which phenolic compounds and furanic derivatives are quantified (Canas and Belchior, 2012).

For the chromatic characteristics, the results obtained confirm what was previously reported (Table I). The increase of colour intensity after the application of the dry extract method in the brandies can be caused by a great contribution of the non-phenolic compounds. It is known that the combination of high values of coordinates a^* and b^* are associated with the topaz hue. In this assay the coordinates a^* and b^* do not undergo significant changes. However, despite the slight increase in the coordinate a^* and A_{470} after application of the method, it may have contributed to the evolution of the brandy's colour towards topaz hue. This combined effect can result from the formation of non-phenolic pigments by temperature action and possibly by oxidation, supporting the hypothesis that the colour of aged brandies in different systems depends on the non-phenolic and/or volatile compounds.

Effect of the ageing time

The Figure 1 shows that the dry extract and the total polyphenol index of the aged wine brandies present a gradual increase, minor in the first 15 days of ageing, followed by a marked evolution between 15 and 90 days. The kinetics displayed are in accordance with the findings of Belchior *et al.* (2001), Canas *et al.* (2002) and Patrício *et al.* (2005). The dissolved oxygen decreases up to 90 days, followed by an increase up to 180 days of ageing. Similar results were reported by Canas *et al.* (2009a). This behaviour can result from a higher consumption of oxygen at the

TABLE III

Average values of the analytical parameters of the samples before and after applying the dry extract method
Valores médios dos parâmetros analíticos das amostras antes e após aplicação do método do extrato seco

System		Staves			Barrels			
Essay	Effect	C	ES	ES-C (%)	Effect	C	ES	ES-C (%)
TPI	ns	16.78	12.27	-27	ns	23.70	17.01	-28
L*	ns	90.28	84.44	-6	ns	89.83	85.07	-5
C*	ns	47.56	47.65	0	ns	45.00	46.29	3
a*	ns	2.06	3.51	70	ns	1.18	2.72	130
b*	ns	47.51	47.51	0	ns	44.98	46.20	3
A 470	ns	0.19	0.24	26	ns	0.18	0.23	24
HMF	ns	2.79	2.17	-22	ns	15.08	12.79	-15
furf	***	35.20 b	(0.06) a	-99.8	***	41.67 b	0.24 a	-99
5mfurf	ns	(0.09)	nd	-55	*	(0.18) b	nd a	-68
gall	ns	7.68	7.42	-3	ns	41.96	43.16	3
van	ns	1.57	1.85	18	ns	2.46	1.63	-34
syr	*	0.53 a	1.13 b	113	***	2.48 b	0.06 a	-97
ellag	ns	4.46	4.27	-4	ns	6.71	5.60	-17
vanil	ns	1.35	1.02	-24	ns	1.99	1.36	-32
syrde	ns	5.27	5.10	-3	ns	5.05	4.50	-11
cofde	ns	2.07	1.96	-5	ns	5.75	5.39	-6
synde	ns	8.73	9.10	4	ns	17.23	17.13	-1

x (average) of 16 values, means followed by different letters in the row indicate a significant difference (*P = 95%) and highly significant (P*** = 99.9%) ns - no significant difference; nd = not detected ; () value indicates <quantification limit. C = control (brandy before applying the dry extract method); ES = hydroalcoholic solution used for dissolving the dry extract after application of the method. TPI – total polyphenol index; L* - lightness; C* - saturation; a* and b* - chromaticity coordinates; A 470 – absorbance at 470 nm; HMF – 5-hydroxymethylfurfural; furf - furfural; 5mfurf – 5-methylfurfural; gall – gallic acid; van – vanillic acid; syr – syringic acid; ellag – ellagic acid; vanil - vanillin; syrde - syringaldehyde; cofde - coniferaldehyde; synde – synapaldehyde.

beginning of ageing owing to several reactions in which oxygen participates, particularly in the extraction of wood compounds (Belchior and San-Romão, 1982). At 180 days there is a further increase in the availability of dissolved oxygen, which can be associated with the predominance of extraction regard to oxidation.

Concerning the evolution of the chromatic characteristics, it is observed a continuous increase of saturation and a decrease of lightness, thereby being consistent with that described by Canas *et al.* (2009a).

It is inferred that these kinetic may arise from the increase of phenolic and non-phenolic compounds in the brandy, and found a very strong correlation with the content of melanoidins. As can be seen in Figure 1, the value of A 470 nm presents a gradual increase even after 90 days of ageing, and between 90 and 180 days the increase becomes not significant, which may be partly explained by the high standard deviation associated with the sampling carried out at 180 days. The largest standard deviation at this ageing stage possibly reflects the influence of several

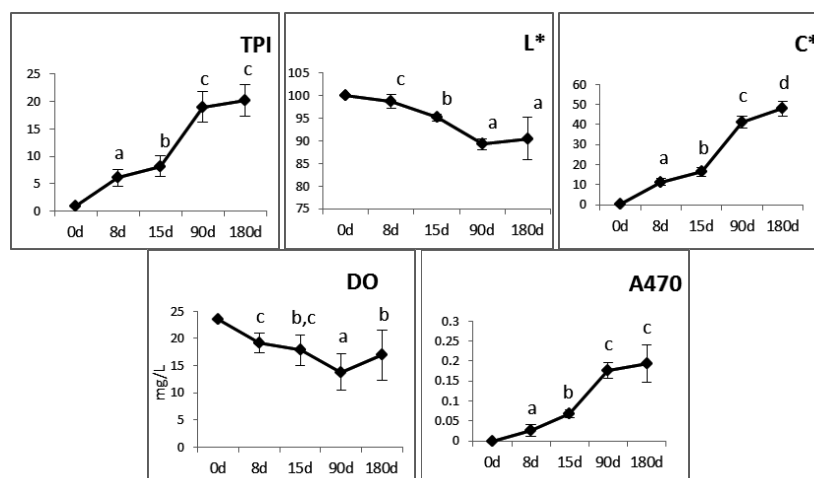


Figure 1 - Kinetics of dry extract (DE), total polyphenol index (TPI), dissolved oxygen (DO), lightness (L*), saturation (C*) and absorbance at 470 nm (A 470) of the wine brandies during the first six months of ageing. Mean values with different letters indicate highly significant (P=99.9%).

Cinéticas do extrato seco (DE), índice de polifenóis totais (TPI), oxigênio dissolvido (DO), luminosidade (L*), saturação (C*) e absorvência a 470 nm (A 470) da aguardente vínica durante os primeiros seis meses de envelhecimento. Valores médios assinalados com letras diferentes indicam diferença altamente significativa (P=99.9%).

factors: the wood intra-specific variability; the shape of the wood; the variability associated with the heat treatment to which the wood was subjected.

Evaluating the kinetics of the chromaticity coordinates (Figure 2), it is found that the raw distillate has a green colour (corresponding to a negative value of a^*), while the colour exhibit by the aged brandies result from the combination of red (positive values of coordinate a^*) and yellow (positive values of coordinate b^*) hues. In the first 15 days of ageing, the evolution of red (a^*) and yellow (b^*) hues is higher than those of the brandies aged in wooden barrels. But after 90 days, in the brandies aged in stainless steel tanks with staves both hues progressively increase. In the brandies aged in wooden barrels, it is observed a gradual evolution of the coordinates a^* and b^* up to 15 days, but after 90 days the yellow hue becomes predominant since the b^* coordinate increase and a^* coordinate has a slight variation.

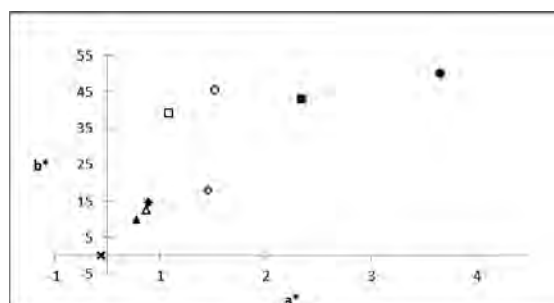


Figure 2 - Projection of the mean values of chromaticity coordinates of the wine brandies in the first six months of ageing. x 0 days; ▲ 8 days; ◆ 15 days; ■ 90 days; ● 180 days; Tanks – filled symbol; Barrels – unfilled symbol.

Projeção dos valores médios das coordenadas retangulares das aguardentes vinicas durante os primeiros seis meses de envelhecimento. x 0 dias; ▲ 8 dias; ◆ 15 dias; ■ 90 dias; ● 180 dias; Depósitos – símbolo com preenchimento; Vasilhas - símbolo sem preenchimento.

There are relevant changes in the furanic and phenolic composition of the brandies over the time, shown by the steady increase in the contents of all of the studied low molecular weight compounds (Figure 3). The 5-hydroxymethylfurfural, and especially the 5-methylfurfural, have a slow increase in the initial phase of ageing (first 15 days), whereas the furfural increase significantly in the same period of time. When comparing the first 15 days with 90 days of ageing, it is clear that the three furanic aldehydes have a significant increase. From 90 to 180 days the concentrations of furfural and 5-hydroxymethylfurfural not vary significantly. This behaviour may be related to the occurrence of condensation reactions between these compounds and phenolic compounds present in the brandy (Es-Safi *et al.*, 2002). Distinctly the 5-methylfurfural continues to increase significantly from 90 to 180 days.

In the case of phenolic acids, the evolution between 8 and 15 days is only significant for syringic acid. After this phase vanillic and ellagic acids increase progres-

sively up to 180 days. The kinetics of these acids may reveal the effect of the heat treatment of the wood in the brandy's chemical composition (Nishimura *et al.*, 1983; Rabier and Moutounet, 1991). Gallic and syringic acids do not show a significant increase between 90 days and 180 days, probably due to the high standard deviation, as mentioned before.

The phenolic aldehydes show similar kinetics, except for syringaldehyde. The contents of vanillin, coniferaldehyde and sinapaldehyde have only a significant increase from 15 to 90 days, which is consistent with the results of Belchior *et al.* (2001) and Canas *et al.* (2004), suggesting that the extraction kinetics is more pronounced in this period of time. The kinetics of syringaldehyde distinguishes itself by a significant increase throughout the ageing period studied. Recalling that the benzoic aldehydes (vanillin and syringaldehyde) mainly result from the oxidation of cinnamic aldehydes (coniferaldehyde and sinapaldehyde) proceeding from the lignin degradation during the heat treatment of the wood and/or its hydroalcoholysis during ageing (Puech, 1984), Quaresma (2000) states that the kinetics of vanillin and coniferaldehyde and those of syringaldehyde and sinapaldehyde appear to be related, since the slower increase of coniferaldehyde and sinapaldehyde corresponds to a continuous increase in the concentration of vanillin and syringaldehyde, respectively.

The analysis of interactions indicates that the kinetics of lightness and 5-hydroxymethylfurfural (highly significant), gallic acid (very significant), and coordinate a^* , dissolved oxygen, A 470, syringic acid and 5-methylfurfural (significant) depend on the ageing system.

CONCLUSIONS

This study provides, for the first time, specific information about the physicochemical characterization of wine brandies aged in alternative systems at industrial-scale.

Under these experimental conditions, it is found that after six months of ageing the alternative system comprising stainless steel tanks with staves in contact with the wine brandy did not allow the acquisition of the physicochemical characteristics achieved by the same wine brandy aged in wooden barrels. However, the colour evolution is greater in the brandies aged in the alternative system, which raises issues regarding the relationship between the chemical composition and the chromatic characteristics of the wine brandy aged in different systems.

The brandies aged in barrels present higher dry extract, higher total polyphenol index and higher concentration of phenolic and furanic compounds, i.e., have the richest chemical composition, but lower chromatic evolution than the brandies aged in stainless steel tanks with staves. This negative correlation

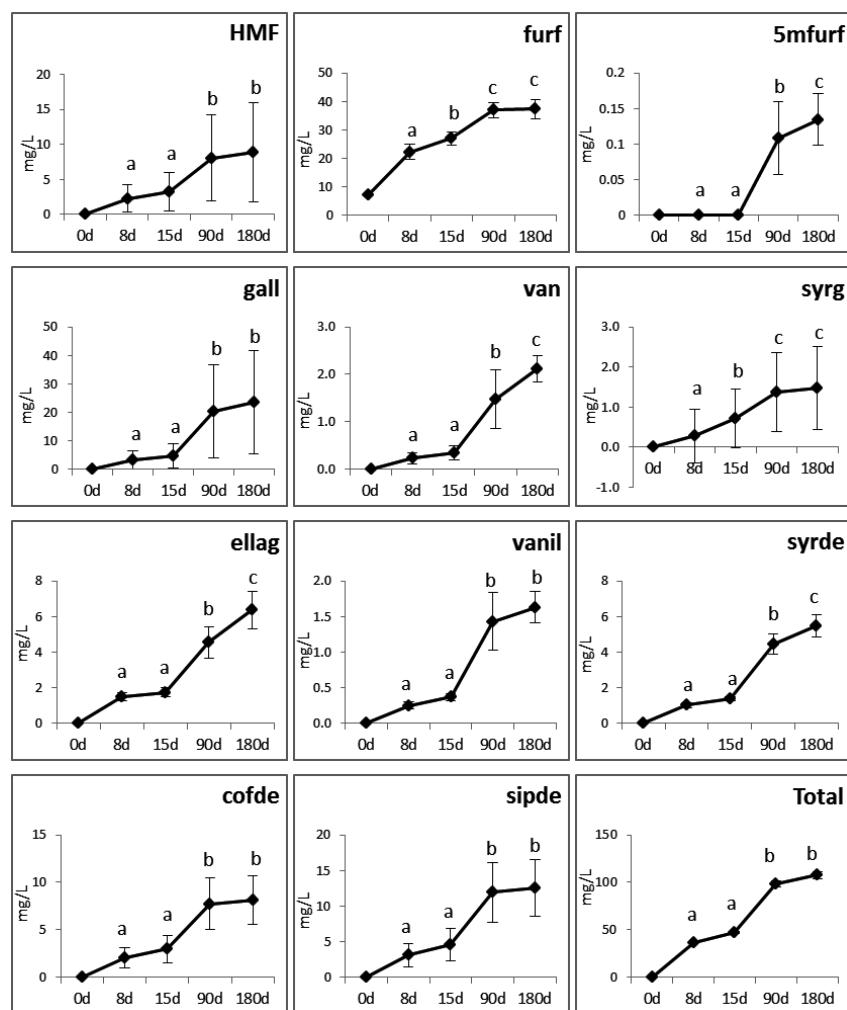


Figure 3 - Kinetics of the low molecular weight compounds of the wine brandies in the first six months of ageing. Different letters indicate highly significant difference ($P=99.9\%$). HMF – 5-hidroximetilfurfural; furf - furfural; 5mfurf - 5-metilfurfural; gall – ácido gálico; van – ácido vanílico; syrg – ácido síringico; ellag – ácido elágico; vanil – vanilina; syrde – síringaldeído; cofde – coniferaldeído; sipde – sinapaldeído; Total – total dos compostos de massa molecular baixa.

Cinéticas dos compostos de massa molecular baixa na aguardente vínica nos primeiros seis meses de envelhecimento. Letras diferentes indicam diferença altamente significativa ($P=99.9\%$). HMF – 5-hidroximetilfurfural; furf - furfural; 5mfurf - 5-metilfurfural; gall – ácido gálico; van – ácido vanílico; syrg – ácido síringico; ellag – ácido elágico; vanil – vanilina; syrde – síringaldeído; cofde – coniferaldeído; sipde – sinapaldeído; Total – total dos compostos de massa molecular baixa.

between chemical composition and the chromatic characteristics suggests the existence of unknown reactions that may have been caused by the use of two kinds of wood simultaneously, by specific phenomena in each ageing system, and/or the presence of non-phenolic compounds that influence the colour of the aged brandies.

The results obtained for the absorbance at 470 nm and from the dry extract assay reinforce the hypothesis of the crucial role of some non-phenolic compounds to the colour of the aged brandies, that may explain the apparent inconsistency between the chemical composition and the chromatic characteristics, as well as the difference to the positive correlations found in previous studies on the traditional ageing of wine brandies.

Among the low molecular weight compounds of the studied brandies, the 5-hydroxymethylfurfural, gallic acid, coniferaldehyde and sinapaldehyde seem to be

chemical markers of the ageing system.

Regarding the ageing time, there is a significant increase of furanic and phenolic compounds release from the wood into the brandy, which indicates that extraction was preponderant to oxidation in both ageing systems during the first six months of ageing.

The ongoing research of wine brandy ageing until the second year will provide information that may contribute to clarify the doubts about the role of phenolic and non-phenolic compounds on the chromatic characteristics, and also about the main related phenomena.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work had the financial support of Tanoaria J. M. Gonçalves, Adega Cooperativa de Lourinhã and INIAV-Dois Portos.

REFERENCES

- Afonso V.L.G., 2002. Sensory descriptive analysis between white wines fermented with oak chips and in barrels. *J. Food Sci.*, **67**, 2415-2419.
- Arapitsas P., Antonopoulos A., Stefanou E., Dourtoglou V.G., 2004. Artificial ageing of wines using oak chips. *Food Chem.*, **86**, 563-570.
- Alañón M.E., Rubio H., Diaz-Maroto M.C., Pérez-Coello M.S., 2010. Monosaccharide anhydrides, new markers of toasted oak wood used for ageing wines and distillates. *Food Chem.*, **119**, 505-512.
- Avakians S., 1992. Régulation des processus de vieillissement des eaux-de-vie. In: *Élaboration et connaissance des spiritueux*. 595-600, Cantagrel R. (ed.), Lavoisier - TEC & DOC, Paris.
- Bakker J., Bridle P., Timberlake C.F., 1986. Tristimulus measurements (CIELab 76) of port wine colour. *Vitis*, **25**, 67-78.
- Belchior A.P., Almeida T.G.T., Mateus A.M., Canas S., 2003. Ensaio laboratorial sobre a cinética de extracção de compostos de baixa massa molecular da madeira pela aguardente. *Ciência Tec. Vitiv.*, **18**, 29-41.
- Belchior A.P., Caldeira I., Costa S., Lopes C., Tralhão G., Ferrão A.F.M., Mateus Ana M., 2001. Evolução das características físico-químicas e organolépticas de aguardentes Lourinhã ao longo de cinco anos de envelhecimento em madeiras de carvalho e castanheiro. *Ciência Tec. Vitiv.*, **16**, 81-94.
- Belchior A.P., Carvalho E., 1983. A cor das aguardentes víquicas envelhecidas: método espectrofotométrico de determinação e relação com os teores em fenólicos totais. *Ciência Tec. Vitiv.*, **2**, 57-65.
- Belchior A.P., Mateus, A.M., Soares A.M., 2005. Comparaison du vieillissement de l'eau-de-vie Lourinhã en fûts de châtaignier et de chêne et en deux volumes. *Ciência Tec. Vitiv.*, **20**, 91-103.
- Belchior A.P., San-Romão V., 1982. Influence de l'oxygène et de la lumière sur l'évolution de la composition phénolique des eaux-de-vie vieilles en bois de chêne. *Bull. Liason Groupe Polyphenols*, **11**, 598-604.
- Borrelli R.C., Visconti A., Memmella C., Anese M., Fogliano V., 2002. Chemical characterization and antioxidante properties of coffee melanoidins. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6527-6533.
- Cabrita M.J., Barrocas Dias C., Costa Freitas A.M., 2011. Phenolic acids, phenolic aldehydes and furanic derivatives in oak chips: American vs. French oaks. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **32**, 204-211.
- Caldeira I., Anjos O., Portal V., Belchior A.P., Canas S., 2010. Sensory modifications of wine-brandy aged with chestnut and oak wood fragments in comparison to wooden barrels. *Anal. Chim. Acta*, **660**, 43-52.
- Caldeira I., Mateus A.M., Belchior A.P., 2006. Flavour and odour profile modifications during the first five years of Lourinhã brandy maturation on different wooden barrels. *Anal. Chim. Acta*, **563**, 264-273.
- Câmpeanu R., Ionescu M., Gavrilescu I., 1992. Evolution des divers constituants volatils et non volatils des eaux-de-vie de vin au cours de leur vieillissement en fûts de chêne. In: *Élaboration et connaissance des spiritueux*, 589-594, Cantagrel R. (Ed.), Lavoisier - Tec & Doc, Paris.
- Canas, S. 2003. *Estudo dos compostos extraíveis de madeira (Carvalho e Castanheiro) e dos processos de extracção na perspectiva do envelhecimento em Enologia*. 303 p. Tese de Doutouramento em Engenharia Agro-Industrial, UTL-ISA, Lisboa, Portugal.
- Canas S., Belchior A.P., 2012. Effects of caramel addition on the characteristics of wine brandies. *LWT* (in press).
- Canas S., Belchior A.P., Caldeira I., Spranger M.I., Bruno de Sousa R., 2000a. La couleur et son évolution dans les eaux-de-vie Lourinhã pendant les trois premières années du vieillissement. *Ciência Tec. Vitiv.*, **15**, 1-14.
- Canas S., Belchior A.P., Falcão A., Gonçalves J.A., Spranger M.I., Bruno de Sousa R., 2007. Effect of heat treatment on the thermal and chemical modifications of oak and chestnut wood used in brandy ageing. *Ciência Tec. Vitiv.*, **22**, 5-14.
- Canas S., Belchior A.P., Mateus A.M., Spranger M.I., Bruno de Sousa R., 2002. Kinetics of impregnation/evaporation and release of phenolic compounds from wood to brandy in experimental model. *Ciência Tec. Vitiv.*, **17**, 1-14.
- Canas, S., Belchior, A.P., Spranger, M.I., Bruno de Sousa, R., 2003. High-performance liquid chromatography method for analysis of phenolic acids, phenolic aldehydes and furanic derivatives in brandies. Development and validation. *J. Sep. Sci.*, **26**, 496-502.
- Canas S., Caldeira I., Belchior A.P., 2009a. Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Oxygenation and wood shape effect. *Ciência. Tec. Vitiv.*, **24**, 33-40.
- Canas S., Caldeira I., Belchior A.P., 2009b. Comparison of alternative systems for the ageing of wine brandy. Wood shape and wood botanical effect. *Ciência. Tec. Vitiv.*, **24**, 91-99.
- Canas S., Caldeira I., Belchior A.P., Spranger M.I., Clímaco M.C., Bruno de Sousa R., 2011. Chestnut wood: A sustainable alternative for the aging of wine brandies. In: *Food quality: Control, Analysis and Consumer Concerns*, 181-229. Medina D., Laine A.(Eds.) Nova Science Publishers, Inc., New York.
- Canas S., Casanova V., Belchior A.P., 2008. Antioxidant activity and phenolic content of Portuguese wine aged brandies. *J. Food Compos. Anal.*, **21**, 626-633.
- Canas S., Grazina N., Spranger M.I., Belchior A.P., 2000c. Modélisation of heat treatment of Portuguese oak wood (*Quercus pyrenaica* Willd.). Analysis of the behaviour of low molecular weight phenolic compounds. *Ciência Tec. Vitiv.*, **15**, 75-94.
- Canas S., Leandro M.C., Spranger M.I., Belchior A.P., 1999. Low molecular weight organic compounds of chestnut wood (*Castanea sativa* L.) and corresponding aged brandies. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 5023-5030.
- Canas S., Leandro M.C., Spranger M.I., Belchior A.P., 2000b. Influence of botanical species and geographical origin on the content of low molecular weight phenolic compounds of woods used in Portuguese cooperage. *Holzforchung*, **54**, 255-261.
- Canas S., Spranger M.I., Belchior A.P., Bruno-de-Sousa R., 2004. Isolation and identification by LC-ESI-MS of hydrolyzable tannins from *Quercus pyrenaica* Willd. and *Castanea sativa* Mill. heartwoods. In: *Proceedings of the 4th Tannin Conference*. 4. Philadelphia.
- Chang A., 2004. The effects of different accelerating techniques on maize wine maturation. *Food Chem.* **86**, 61-68.
- Chatonnet P., 1995. *Influence des procédés de tonnellerie et des conditions d'élevage sur la composition et la qualité de vins élevés en fûts de chêne*. 268 p. Thèse doctorat, Université de Bordeaux II, Institut d'Oenologie: Bordeaux.
- Cutzach I., Chatonnet P., Henry R., Dubourdieu D., 1997. Identification of volatile compounds with a "toasty" aroma in heated oak used in barrel making. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2217-2224.
- De Beer D., Joubert E., Marais J., du Toit W., Fourie B., Manley M., 2009. Characterisation of pinotage wine during maturation on different oak products. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, **29**, 39-49.
- Del Álamo M., Nevares I., Gallego L., Martín C., Merino S., 2008. Ageing markers from bottled red wine aged with chips, staves and barrels. *Anal. Chim. Acta*, **621**, 86-99.
- Del Álamo M., Nevares I., Gallego L., Simón B., Cadahía E., 2010. Micro-oxygenation strategy depends on the origin and size of oak chips or staves during accelerated red wine aging. *Anal. Chim. Acta*, **660**, 92-101.

- Doussot F., J  so B., Quideau S., Pardon P., 2002. Extractives content in cooperage oak wood during natural seasoning and toasting, influence of tree species, geographic location, and single-tree effects. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5955-5961.
- Eiriz N., 2007. Fragmentos de madeira de carvalho no envelhecimento de vinhos tintos. Disserta  o do curso de mestrado em Tecnologia Alimentar/ qualidade, Faculdade de ciências e tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.
- Es-Safi N., Cheynier V., Moutounet M., 2000. Study of the reactions between (+)-catechin and furfural derivatives in the presence or absence of anthocyanins and their implication in food color change. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 5946-5954.
- Es-Safi N., Cheynier V., Moutounet M., 2002. Role of aldehydes in the condensation of phenolic compounds with emphasis on food organoleptic properties. In: *Proceedings of the XXI th International Conference on Polyphenols*. Vol.1, 217-218. El Hadrami I. (Ed.), Marrekch, Morocco.
- Fan W., Xu Y., Yu A., 2006. Influence of oak chips geographical origin, toast level, dosage and aging time on volatile compounds of apple cider. *J. Inst. Brew.*, **112**, 255-263.
- Fengel D., Wegener G., 1989. *Wood chemistry, ultrastructure, reactions*. 319-342. Walter de Gruyter & Co, Berlin.
- Gokmen V., Senyuva H.Z., 2006. Study of colour and acrylamide formation in coffee, wheat flour and potato chips during heating. *Food Chem.*, **99**, 238-243.
- Hale M. D., McCafferty K., Larmie E., Newton J., Swan J. S., 1999. The influence of oak seasoning and toasting parameters on the composition and quality of the wine. *Am. J. Enol. Vit.*, **50**, 495-502.
- Hofmann T., 1998. Characterization of the most intense coloured compounds from Maillard reactions of pentoses by application of colour dilution analysis. *Carbohydr. Res.*, **313**, 203-213.
- Jeuring H.J., Kupperts J.E.M., 1980. High performance liquid chromatography of furfural and hydroxymethylfurfural in spirits and honey. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 1215-1218.
- Jordão A.M., Ricardo da Silva J.M., Laureano O., 2005. Comparison of volatile composition of cooperage oak wood of different origins (*Quercus pyrenaica* vs. *Quercus alba* and *Quercus petraea*). *Mitteilungen Klosterneuburg*, **55**, 22-31.
- Kelly M., Wollan D., 2003. Micro-oxygenation of wine in barrels. *Aust. & N. Z. Grap. Wine*, Annual Technical Issue, 45-50.
- Madrera R.R., Gomis D.B., Alonso J.J.M., 2003. Influence of distillation System, oak wood type, and aging time on volatile compounds of cider brandy. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 5709-5714.
- Martinez R.G., Serrana H.L., Mir M., Alarcón M., Herrera M., Vique C., Martínez C., 2001. Study of vanillin, syringaldehyde and gallic acid content in oak wood and wine spirit mixtures: Influence of heat treatment and chip size. *Wine Research*, **12**, 175-182.
- Martins S.I.F.S., Van Boekel M.A.J.S., 2003. Melanoidins extinction coefficient in the glucose/glycine Maillard reaction. *Food Chem.*, **83**, 135-142.
- Morales M.L., Benitez., Troncoso A.M., 2004. Accelerated aging wine vinegars with oak chips: evaluation of wood flavour compounds. *Food Chem.*, **88**, 305-315.
- Mosedale J.R., 1995. Effects of oak wood on the maturation of alcoholic beverages with particular reference to whisky. *Forestry*, **68**, 203-230.
- Mourgues J., Jouret C., Moutounet M., 1973. Détermination du taux d'oxygène dissous et du potentiel oxydo-r  ducteur des eaux-de-vie d'armagnac au cours de leur maturation. *Ann. Technol. Agric.*, **22**, 75-90.
- Moutounet M., Maza  ric J.P., Saint-Pierre B., Hanocq J.F., 1998. Gaseous exchange in wines stored in barrels. *J. Sci. Tech. Tonellerie*, **4**, 115-129.
- Nevares I., Del Álamo M., 2008. Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. *Anal. Chim. Acta*, **621**, 68-78.
- Nevares I., Del Álamo M., Cárcel M., Crespo R., Martin C., Gallego L., 2009. Measure the dissolved oxygen consumed by red wines in aging tanks. *Food Bioprocess Technol.*, **2**, 328-336.
- Nishimura K., Ohnishi M., Masahiro M., Kunimasa K., Ryuichi M., 1983. Reactions of wood components during maturation. In: *Flavour of distilled beverages: origin and development*, 241-255, Piggott, J.R. (Ed.), Ellis Horwood Limited, Chichester.
- OIV, 1994. Recueil des méthodes internationales d'analyse des boissons spiritueuses, des alcools et de la fraction aromatique des boissons. OIV, Paris.
- Patrício I., Canas S., Belchior A.P., 2005. Effect of brandies' agitation on the kinetics of extraction/oxidation and diffusion of wood extractable compounds in experimental model. *Ciência Tec. Vitiv.*, **20**, 1-15.
- Piracci A., Bucelli P., Faviere V., Giannetti F., Scalzo R., Novello E., 2001. Frammenti legnosi oak-chips e staves: contributo alla stabilizzazione del colore. *L'Oenologo*, **10**, 103-109.
- Prida A., Puech J.L., 2006. Influence of geographical origin and botanical species on the content of extractives in American, French, and East European oak woods. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 8115-8126.
- Puech J. L., 1984. Characteristics of oak wood and biochemical aspects of Armagnac aging. *Am. J. Enol. Vit.*, **32**, 111-114.
- Puech J.-L., Mosedale J.R., 1998. Wood maturation of distilled beverages. *Food Sci. Techn.*, **9**, 95-101.
- Puech J. L., Mourgues J., Mosedale J.R., Léauté R., 1998. Barriques et vieillissement des eaux-de-vie. In: *  nologie. Fondements scientifiques et technologiques*. 22.2, 1110-1142. Flanzy C. (Ed.) Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Lavoisier Tec & Doc, Paris.
- Quaresma H.C., 2000. *Evolui  o da composi  o fenólica de uma aguardente Lourinhã ao longo dos primeiros quatro anos de envelhecimento*. 58 p. Estágio de fim de curso, do Curso de Bacharelato em Tecnologia do Vinho, do Instituto Politécnico de Santarém.
- Rabier Ph., Moutounet M., 1991.   volution d'extractibles de bois de   ne dans une eau-de-vie de vin. Incidence du traitement des barriques. In: *Les eaux de vie traditionnelles d'origine viticole*. 220-230. Bertrand A. (Ed.), Lavoisier - Tec & Doc, Paris.
- Reazin G.H., 1981. Chemical mechanisms of whiskey maturation. *Am. J. Enol. Vit.*, **32**, 283-289.
- Reg. CE n  110/2008. Commission Regulation. *Off. J. Eur. Union*, 2008, **39**, 16-54.
- Ribéreau-Gayon P., 1970. Le dosage des composés phénoliques totaux dans les vins rouges. *Chim. Anal.*, **52**, 627-631.
- Sarni F., Moutounet M., Puech J.-L., Rabier Ph., 1990. Effect of heat treatment on oak wood extractable compounds. *Holzfor-schung*, **44**, 461-466.
- Singleton V.L., 1995. Maturation of wines and spirits: comparisons, facts and hypotheses. *Am. J. Enol. Vitic.*, **46**, 98-115.
- Tesfaye W., Morales M., Benítez B., Garcia-Parrilla M.C., Troncoso A.M., 2004. Evolution of wine vinegar composition during accelerated aging with oak chips. *Anal. Chim. Acta.*, **513**, 239-245.